

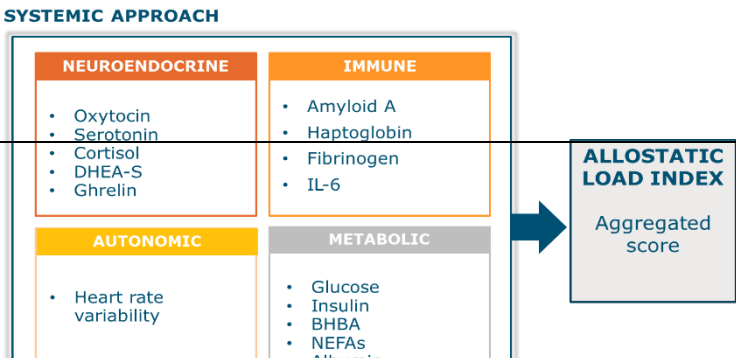


Algemene gegevens	
PPS-nummer	AF-16162
Titel	Biomarkers voor welzijn van melkvee
Thema	Duurzame veehouderij
Uitvoerende kennisinstelling(en)	WLR
Projectleider onderzoek (naam + emailadres)	Kees van Reenen, kees.vanreenen@wur.nl
Penvoerder (namens private partijen)	Hanneke van Wichen (ZuivelNL)
Adres projectwebsite	https://www.wur.nl/nl/Onderzoek-Resultaten/Onderzoeksprojecten-LNV/Expertisegebieden/kennisonline/Biomarkers-welzijn-melkvee.htm
Startdatum	September 2017
Einddatum	September 2021

Goedkeuring penvoerder/consortium	
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 type="checkbox"/> goedgekeurd <input type="checkbox"/> niet goedgekeurd
Eventuele opmerkingen over de jaarrapportage:	

Inhoudelijke samenvatting van het project	
Probleemomschrijving	<p>Op dit moment beschikbare instrumenten voor het monitoren van gezondheid en welzijn van melkkoeien op bedrijven in de praktijk, zoals bijvoorbeeld KoeKompass, zijn arbeidsintensief en daardoor relatief kostbaar. Bovendien ontbreken in deze instrumenten waarnemingscriteria die specifiek indicatief zijn voor positief welzijn. Dit project heeft tot doel om gemakkelijk toepasbare, objectieve en non-invasieve biomarkers te ontwikkelen voor het meten van zowel negatief welzijn en stress als positief welzijn en geluk bij melkkoeien op koppelniveau.</p> <p>Het achterliggende principe is afkomstig uit recent onderzoek met in het bijzonder mensen en primaten. Daaruit blijkt dat de emotionele toestand (van positief tot negatief) samenhangt met variatie in neuroendocriene en fysiologische biomarkers, zoals bepaalde hormonen, componenten van het immuunsysteem in bloed en speeksel, en parameters met betrekking tot hartslag en hartslagvariabiliteit.</p> <p>Ook bij (landbouwhuis)dieren zijn aanwijzingen dat veranderingen in emotionele toestand, bijvoorbeeld onder invloed van stress of ziekte, gepaard gaan met karakteristieke neuroendocriene en fysiologische veranderingen. Gedragskenmerken zoals spelgedrag en positieve sociale contacten met soortgenoten worden voornamelijk als sterkste indicatoren gezien voor de aanwezigheid van een positieve emotionele toestand bij (landbouwhuis)dieren. De fysiologische en neuroendocriene karakterisering van een positieve emotionele toestand van (landbouwhuis)dieren is een nog grotendeels onontgonnen terrein.</p>

Doelen van het project	De PPS 'Biomarkers Welzijn Melkkoeien' heeft tot doel om objectieve biomarkers te identificeren voor het meten van zowel 'negatief' welzijn en 'stress' als 'positief' welzijn en 'geluk' bij melkkoeien. De beoogde biomarkers moeten frequent en op een non-invasieve manier gemeten kunnen worden. Daarmee wordt het mogelijk voor melkveehouders om directer en efficiënter op het welzijn van hun koeien te sturen, en een toestand van verminderd welzijn in vroegtijdig stadium te detecteren. In het onderzoek wordt gebruik gemaakt van gedragsmatige methoden om de emotionele toestand van melkkoeien te karakteriseren, in het bijzonder de zogenaamde 'judgment bias test'. Gedragsmatige methoden worden gecombineerd met fysiologische, neuro-endocrine, en immunologische bepalingen.
------------------------	---

Resultaten	
Beoogde resultaten 2019	<p>Experimenteel spoor: Het doel van het experimentele spoor is om onder nauwkeurig gecontroleerde omstandigheden op een melkveeproefbedrijf relevante biomarkers (biologische stofjes in lichaamsvloeistoffen zoals bloed en melk) te identificeren die indicatief zijn voor de emotionele toestand van melkkoeien. In 2019 wordt een groot experiment uitgevoerd dat voor wat betreft de uitvoering het gehele jaar 2019 zal bestrijken. De belangrijkste doelstellingen van dit experiment zijn:</p> <p>1) Het valideren van positief en negatief geïnduceerde stemmingsbehandelingen bij melkvee, op basis van twee cognitieve tests:</p> <p>a) De 'judgment-bias-test'. De Judgement Bias-test maakt het mogelijk om het optimisniveau van een individu te bepalen, dat het resultaat is van een combinatie van de individuele persoonlijkheid en zijn huidige stemming, zie boven, hoofdstuk judgement-bias-test.</p> <p>b) De 'attention-bias-test': Deze nieuwe test is ontworpen en uitgevoerd als een back-up test voor de 'judgement-bias' test. Deze test is nooit gevalideerd bij melkvee en vereist geen uitgebreide training van de dieren en is daarom toegevoegd om te valideren. De test wordt verondersteld een individuele stemming weer te geven, gebaseerd op iemands neiging om zijn aandacht te richten op negatieve versus positieve stimulus.</p> <p>2) Het identificeren van fysiologische biomarkers om de gemoedstoestand van melkvee vast te stellen op basis van drie verschillende en complementaire benaderingen (figuur 1)</p> <p>a) Een benadering met één biomarker. Gebaseerd op humane literatuur zijn er veelbelovende biomarkers uit meerdere fysiologische systemen, waaronder de neuro-endocrine, het immuunsysteem, het autonome- en het metabole systeem.</p> <p>b) Een samengestelde benadering met meerdere biomarkers, namelijk de allostatische belasting. Een opgetelde score die de totale kosten van de fysiologische ontregelingen weergeeft die bij de verschillende systemen optreden. Deze score zal naar verwachting correleren met de stemming van melkvee.</p> <p>c) Een verkennende aanpak, gebaseerd op metabole analyses. Metabolomica maakt het mogelijk om de aanwezigheid van honderden bekende en onbekende kleine moleculen in verschillende biologische materialen te kwantificeren. Deze strategie kan nieuwe biomarkers voor melkvee opleveren die nog niet eerder zijn onderzocht.</p> 

	<p>Praktijkspoor: Veelbelovende biomarkers die in het experimentele spoor zijn geïdentificeerd worden ook bij melkkoeien op bedrijven in de praktijk bepaald. Onderzocht zal worden of deze biomarkers samenhangen met houderijomstandigheden en met welzijnsscores zoals bepaald met monitoringssystemen zoals 'KoeKompas'.</p>
Behaalde resultaten 2019	<p>Jaar 2019 was volledig gewijd aan het tweede en belangrijkste experiment van het Biomarker-project. Dit experiment - uitgevoerd in Dairy Campus, Leeuwarden - begon op 11 februari 2019 en eindigt op 31 januari 2020.</p> <p>Het longitudinale onderzoek, is verdeeld in drie experimentele batches van elk 15 weken (d.w.z. 4 maanden). Twee batches zijn al afgerond en de derde batch loopt tot 31 januari 2020. Elke batch bevat 16 vaarzen die in de gebruikelijke stabiele omstandigheden gedurende 9 weken (conventionele periode) zijn ondergebracht, voordat ze gedurende nog eens 6 weken onder contrasterende positieve of negatieve omstandigheden zijn gehuisvest (experimentele periode). Cognitieve tests (1) en sample afname om in 202 fysiologische metingen uit te voeren (2) zijn uitgevoerd tijdens zowel de conventionele als de experimentele periode, om later de cognitieve en fysiologische parameters van elke individuele vaars te kunnen vergelijken met de niveaus van hun geïnduceerde behandelingen.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Cognitieve tests zijn toegepast om het effect van de huisvestingsomstandigheden op de gemoedstoestand van het vee te valideren. De resultaten worden voor mei 2020 verwacht. <ol style="list-style-type: none"> a) Gedurende 8 weken, van dinsdag tot vrijdag, zijn alle vaarzen gewend en getraind om een ' judgement bias' test, zoals eerder beschreven is, uit te voeren. De reactie van de vaarzen tijdens de test zijn geregistreerd en gefilmd. Tijdens de experimentele periode zijn alle vaarzen opnieuw opgeleid om de Go / No-Go-taak uit te voeren en opnieuw blootgesteld aan de test in week 14. Persoonlijkheidstests - inclusief open fieldtest, novel objecttest, human approachtest en runway test - zijn ook uitgevoerd in week 2 om van elke vaars de persoonlijkheid te bepalen. Dit is gedaan, omdat ze heel anders kunnen reageren op basis van het feit of ze bijvoorbeeld actieve of copers zijn in een uitdagende omgeving. Persoonlijkheidstests zijn geen cognitieve bias-tests, maar zijn gerelateerd aan cognitie. Ze omvatten een aantal verschillende zeer korte uitdagingssituaties die in de loop van de tijd worden gedaan, en kan vervolgens de consistente eigenschappen van het dier extrapoleren in tijd en context, wat de definitie van persoonlijkheid is. b) In week 9 en week 15 is een ' attention bias-test' uitgevoerd. Tijdens deze eendaagse test zijn alle vaarzen gedurende 3 minuten blootgesteld aan een hondenmodel en een vertrouwde emmer gevuld met krachtvoer. Het gedrag van de vaarzen is op video opgenomen. 2) Vaarzen zijn bemonsterd uit verschillende biologische materialen, waaronder melk, bloed en ontlasting om in 2020 fysiologische markers te bepalen (details worden gegeven in figuur 2).

	<p>Bemonsteringsmomenten hebben plaatsgevonden in week 6, 7 en 8 van de conventionele periode en in week 10, 11, 12, 13 en 14 van de experimentele periode. Bovendien zijn in week 9 en 15 bloedmonsters van de vaarzen vóór, tijdens en na een acute stresstest verzameld door venapunctie. De acute stresstest was een gestandaardiseerde pootbekapping van 20 minuten voor elke vaars.</p> <p><u>Praktijkspoor:</u> In de periode tussen december 2018 en april 2019 zijn 76 melkveebedrijven bezocht. Het doel was om 60 bedrijven te selecteren met een vermoeden van minder welzijn, maar dit zijn er uiteindelijk 51 geworden. Daarnaast zijn er 20 random geselecteerde bedrijven bezocht. Om het aantal bedrijven en het contrast tussen te bedrijven te vergroten is er medio februari voor gekozen om vijf bedrijven toe te voegen met een vermoeden van een heel goed welzijn (Continue Diergezondheidsmonitor score 100).</p> <p>Elk melkveebedrijf is in de stalperiode één keer bezocht door een KoeKompass getrainde dierenarts, samen met een student. Tijdens elk bezoek is het KoeKompass-protocol uitgevoerd, met ondersteuning van een Excel programma. In dit programma staan de beslisbomen die dierenartsen exact af moeten lopen zodat de uiteindelijk scores zo objectief mogelijk worden vastgesteld. Ook zijn de houderij-omstandigheden op het betreffende bedrijf waargenomen met betrekking tot dierenwelzijn. Van 10 random geselecteerde dieren en maximaal 5 dieren met een chronische, pijnlijke aandoening zijn bloed-, melk-, mest- en haarmonsters verzameld. Op koppelniveau zijn ook tankmelk- en mestmonsters verzameld.</p> <p>De monsters zijn bij GD verder verwerkt en opgeslagen in een biobank. De haarmonsters zijn geanalyseerd op cortisolniveau op basis van een voor dit project gevalideerd protocol. De serummonsters zijn geanalyseerd op Haptoglobine, Albumine, NEFA, BHBZ, en totaal eiwit. Een analyse protocol voor de biomarker SAA is gevalideerd, maar het blijkt dat de gemeten SAA waarde sterk afhangt van de hemolyse. Hierdoor is het protocol voor SAA niet geschikt om de monsters te analyseren. Er moet verder onderzocht worden om een ander protocol voor SAA toe te passen.</p> <p>Alle data zijn opgeslagen in een database. De uitleesparameters die mogelijk een indicator zijn van het niveau van dierenwelzijn op bedrijfsniveau zijn gedefinieerd. Deze zijn de Welzijnsmonitor scores uit het KoeKompass voor voeding, huisvesting, gezondheid, gedrag, het totaal van deze scores, het minimum van deze scores, de indruk van de GD dierenarts (voldoende / onvoldoende welzijn) en de CDM score.</p> <p>Het voorspellend vermogen van individuele biomarkers voor het wel of niet zijn van een random koe of een chronisch zieke koe zijn onderzocht, waarbij de welzijnsparameters één voor één in de modellen zijn toegevoegd. Hieruit blijkt dat sommige individuele biomarkers sterk gerelateerd zijn aan het type koe en dat met name de indruk van de GD dierenarts over het welzijn op het bedrijf significant toegevoegde waarde heeft in de modellen.</p> <p>Er zijn vervolgens twee voorspellende modellen gebouwd op basis van biomarker-informatie (aantal random geselecteerde koeien die boven een attentiewaarde zitten) die een bedrijf aanwijzen als 'verdacht voor minder welzijn' of niet. Deze uitslag is vervolgens afgezet ten opzichte van de uitleesparameters voor dierenwelzijn. Uit deze analyse blijkt dat bedrijven met een verminderd welzijn (enkele uitleesparameters voor welzijn) aangewezen kunnen worden op basis van biomarker-uitslagen van individuele koeien.</p>
Beoogde resultaten 2020	Experimenteel spoor: Zoals hierboven beschreven loopt het longitudinale onderzoek nog door tot eind januari. Daarna zal de meeste tijd besteed worden aan het

	<p>uitwerken van de verzamelde gegevens en de fysiologische analyses van de verzamelde monsters. De resultaten van de cognitieve tests worden in mei 2020 verwacht.</p> <p>Er zijn verschillende organisaties betrokken bij de ontwikkeling en realisatie van het project:</p> <ul style="list-style-type: none"> • GD en het onderzoeksteam van Rupert Bruckmaier (Veterinaire Fysiologie, Universiteit van Bern) zullen verschillende biomarker-testen uitvoeren. De biomarkers die geanalyseerd zullen worden staan beschreven in figuur 1 De GD zullen de biomarkers testen die ook in het praktijk spoor getest zijn, Haptoglobine, Albumine, NEFA, BHBZ, en totaal eiwit, en cortisol in haar, deze gegevens worden verwacht voor mid 2020. • Resultaten met betrekking tot de allostatische belasting worden vervolgens in september 2020 verwacht. • De metabole analyses worden uitgevoerd door Metabolon. Dit bedrijf zal de ruwe gegevens tegen juni 2020 verstrekken en de resultaten hierover zullen in december 2020 beschikbaar zijn. <p>In overleg met de projectstuurgroep wordt er bekeken of een derde experiment in 2020 plaats kan vinden, nav de resultaten van het experimentele en praktijk spoor.</p> <p>Praktijkspoor: In januari 2020 worden de resultaten van het praktijkspoor in een rapportage opgeschreven. De in het praktijkspoor verzamelde monsters worden getest op de biomarkers die in het experimentele spoor worden geïdentificeerd.</p>
--	--

<p>Opgeleverde producten in 2019 (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><u>Externe rapporten:</u></p>
<p><u>Artikelen in vakbladen:</u></p>
<p><u>Inleidingen/posters tijdens workshops, congressen en symposia:</u></p>
<p><u>TV/ Radio / Social Media / Krant:</u></p>

Overig (Technieken, apparaten, methodes etc.):