

Aanmeldingsformulier voor proeven met gewervelde dieren.

[Redacted]

Aanvrager:

Afdeling:

[Redacted]

Titel dierproef: Schatting van de lysinebehoefte van vleeskalveren met behulp van een [¹³C] isotopen merker techniek.

Aanmeldcode / Protocol: 2005027.a

Stadia van de proef:

09-03-2005	Aangemeld	[Redacted]
22-03-2005	Te wijzigen	Secretaris van de DEC
25-04-2005	Te wijzigen	Secretaris van de DEC
09-05-2005	Te wijzigen	Secretaris van de DEC
09-05-2005	Gekopieerd	[Redacted]

Is deze proef wetenschappelijk getoetst en goedgekeurd? Ja

Toelichting: project is goedgekeurd door de onderzoekscommissie van de leerstoelgroep [Redacted], en maakt deel uit van de verlengingsaanvraag van het [Redacted] project WOB.5505 "Improving nutrient utilization by synchronization using the pruruminant calf as a model" van [Redacted]. Dit [Redacted] project is door [Redacted] goedgekeurd en in februari 2002 ter beoordeling aan de DEC aangeboden. Over de honorering van deze verlengingsaanvraag wordt in april 2005 besloten door het [Redacted] bestuur.

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

. Wetenschappelijke vraag m.b.t. wetensch. vraag

Melk gevoerde kalveren worden normaliter beschouwd als monogastrische dieren, en de toegepaste nutritionele concepten zijn vergelijkbaar. In tegenstelling tot andere monogastrische dieren zijn de conventionele methoden om de behoefte aan essentiële aminozuren te schatten tot nu toe echter bij vleeskalveren niet succesvol. De redenen hiervoor kunnen zijn: 1) een opmerkelijke verlaging van het gebruik van verteerbaar stikstof voor stikstofaanzet met toenemende leeftijd (boven 100 kg lichaamsgewicht); 2) Moeilijkheden bij het opzetten van dit soort studies omdat historisch gezien eiwitbronnen in het voer gebruikt worden die de samenstelling van lichaamseiwit dicht benaderen; 3) Aanzienlijke verschillen in stikstofefficiëntie tussen dieren. Dit laatste is belangrijk omdat behoefteschattingen gewoonlijk worden verkregen met behulp van de tussen dier variatie met stikstofbalans of groei als responsparameters.

Gerrits et al. (1998) concludeerden dat het onwaarschijnlijk is dat limiterende aminozuren de oorzaak zijn van de lage stikstof efficiëntie. Deze conclusie is gebaseerd op de observatie dat de efficiëntie van alle essentiële aminozuren voor aanzet van lichaamseiwit lager is dan 40%.

In de vleeskalverenhoudery worden echter aanzienlijke hoeveelheden kristallijne aminozuren aan het voer toegevoegd, wat de conclusies van Gerrits et al. tegenspreekt.

Dit experiment onderzoekt de mogelijkheid voor een nieuwe benadering van de aminozuurbehoefteschatting. Eenzelfde benadering, bekend als de "aminozuur indicator methode", wordt al toegepast bij varkens en mensen door de groep van [Redacted] in [Redacted]. Het is gebaseerd op het algemeen geaccepteerde idee dat ongebalanceerd aangeboden aminozuren geoxideerd worden.

Het doel van dit experiment is het opzetten en testen van een nieuwe snelle methode van het schatten van de aminozuurbehoefte van individuele kalveren. Als deze methode succesvol is zal dat opleveren 1) een schatting van de aminozuurbehoefte van zware vleeskalveren; 2) inzicht in de tussendier variatie van deze schatting; 3) inzicht in de tijdsduur van de metabole adaptatie aan veranderingen in lysine deficientie. Het laatste is belangrijk voor het bepalen van de duur van eventuele toekomstige experimenten.

Als de in dit experiment geteste methode succesvol is levert het een simpele, niet invasieve methode op voor de schatting van aminozuurbehoefte. Een dergelijke methode kan worden gebruikt voor het schatten van de invloed van verschillende omstandigheden, bv huisvesting, gezondheidsstatus, ruwvoerverstrekking etc. op de aminozuurbehoefte.

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

In de praktische dierhouderij wordt veel gebruik gemaakt van plantaardige eiwitbronnen. Deze eiwitbronnen hebben vaak een sub-optimaal aminozuurpatroon voor de aanzet van lichaamseiwit en worden daarom aangevuld met synthetische (vrije) aminozuren.

Indien aminozuren niet worden gebruikt voor eiwitaanzet (in kalveren is dit ongeveer 60%) verlaat de stikstof via urine het lichaam. Een beter inzicht in het effect van de onderlinge metabole beschikbaarheid van aminozuren op de benutting ervan, kan leiden tot verbeterde eiwitbenutting en verminderde stikstofuitscheiding via urine.

In de praktische kalverhouderij is de aminozuurbehoefte bij zware kalveren niet duidelijk. Het is daarom moeilijk om aan te geven welke hoeveelheid synthetische aminozuren aan plantaardige eiwitbronnen moet worden toegevoegd om de stikstofverliezen te beperken.

Wetenschappelijk gezien is het belangrijk om een snelle, niet invasieve methode beschikbaar te hebben voor de schatting van de aminozuurbehoefte onder verschillende omstandigheden.

1.c. Lekensamenvatting:

2. Gepland vanaf: 23-05-2005 tot 14-09-2005

3. Specificatie diergroepen:

Proefkalveren 12	runderen	kalveren die in de klimaat en respiratiecellen gehuisvest worden
Reservekalveren 6	runderen	kalveren die NIET in de klimaat en respiratiecellen gehuisvest worden

4.a. Nadere aanduiding gebruikte dieren:

In de proef worden zware stierkalveren (>150kg) van het ras Holstein-Friesian gebruikt. 18 kalveren zijn aangevoerd op een leeftijd van twee weken van de [REDACTED] en worden vervolgens gedurende 15 weken op de proefaccommodatie worden gehouden tot een gewicht van 150 kg. Daarna worden 3 x 2 kalveren geselecteerd voor de proef "Supplementatie van aminozuren bij kalveren", goedgekeurd DEC protocol 2004103b, van [REDACTED].

Na afloop van deze proef zal uit de aanwezige dieren een selectie plaatsvinden op basis van gezondheid, gewicht en voeropname om als proefdier gebruikt te worden in de proef die in deze aanvraag beschreven wordt. De overige kalveren blijven als reservedieren beschikbaar voor de proef.

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

Er is gekozen voor zware vleeskalveren omdat dit het doeldier van dit onderzoek is. Zware vleeskalveren hebben een erg lage efficiëntie waarmee voedingseiwit wordt aangezet (<40%). Bovendien worden synthetische aminozuren in kalvermelk vaak gebruikt om een aminozuurdeficiëntie van, met name plantaardig, eiwit te compenseren.

4.c. Toelichting voor het aantal gebruikte dieren:

Er worden drie groepen dieren gebruikt (3x6 dieren), waarvan er uiteindelijk 3x4 in de proef worden betrokken. In verband met de herhaalde waarnemingen per dier is gekozen voor het aanvoeren van 6

kalveren per groep. Uitervaring in vorige proeven is gebleken dat uitval en met name het drinkgedrag sterk kan verschillen tussen kalveren en voor het slagen van de gekozen proefopzet is het belangrijk dat goed drinkende kalveren geselecteerd kunnen worden.

4.d. Herkomst:

Proefkalveren E. andere herkomst

Reservekalveren A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland

Toelichting:

De proefdieren worden hergebruikt uit de proef "Supplementatie van aminozuren bij kalveren", goedgekeurd DEC protocol 2004103b, van [REDACTED]. Na afloop van deze proef zal uit de aanwezige dieren een selectie plaatsvinden op basis van gezondheid, gewicht en voeropname om als proefdier hergebruikt te worden in de proef die in deze aanvraag beschreven wordt.

5.a. Accommodatie:

De voorperiode vindt plaats in stal C van proefaccommodatie [REDACTED]. De kalveren worden in groepen van 4 dieren gehuisvest [zodat optimaal sociaal contact mogelijk is]. De voorperiode is in deze aanvraag opgenomen omdat de kalveren geen ruwvoer verstrekt krijgen.

De adaptatieperiode duurt 2 weken en vindt ook plaats in stal C. Tijdens deze periode worden de kalveren individueel gehuisvest in dezelfde groepshokken als de voorperiode waarbij de kalveren door tussenhekken van elkaar gescheiden zijn zodat de individuele behandeling aan het dier opgelegd kan worden en de individuele voeropname gecontroleerd kan worden. Contact tussen dieren blijft mogelijk.

De proefperiode vindt plaats in cellen 7 en 8 van de klimaat en respiratiecellen op proefaccommodatie [REDACTED]. De proefkalveren worden 2 keer 2 weken individueel de klimaat en respiratiecellen gehuisvest met een periode van 4 weken tussen deze celperioden. De dieren krijgen de volledige breedte (150cm) van de cel tot hun beschikking bij een cellengte van 225cm. De dieren worden met een halsband vastgezet om omdraaien te voorkomen. De halsband zal zodanig bewegelijk worden bevestigd dat de dieren de volledige breedte (150cm) als sta- en lig-ruimte kunnen benutten. In de klimaat en respiratiecellen 7 en 8 is visueel en auditief contact tussen de dieren mogelijk.

5.b. Huisvesting & Verzorging:

Voor- en tussenperiode:

Tijdens deze perioden worden kalveren dagelijks tweemaal gevoerd volgens een gangbaar, commercieel voerschema. Het voeropnamegedrag per kalf wordt nauwkeurig geregistreerd en kalveren worden tweewekelijks gewogen.

Adaptatieperiode:

Tijdens de adaptatie periode word geleidelijk van het commercieel voer omgeschakeld naar het proefvoer. Het voeropnamegedrag per kalf wordt nauwkeurig geregistreerd en kalveren worden tweewekelijks gewogen.

Proefperiode:

Er worden herhaalde waarnemingen aan de proefkalveren verricht. Zes proefkalveren worden 2 x 2 weken in een respiratiecel gehuisvest. Tussen deze proefperioden zit telkens een periode van 4 weken als tussen- en adaptatieperiode

Gedurende de voorperiode, adaptatie en proefperiode wordt de gezondheid van de kalveren minimaal tweemaal daags gecontroleerd. Indien op basis van gezondheid of gedrag (m.n. voeropname) een duidelijke verslechtering wordt waargenomen, worden de dieren uit de proef verwijderd. Er wordt gedurende alle dagen van het experiment een welzijnsdagboek bijgehouden.

5.c. Voeding:

Tijdens de voor- en tussenperiode wordt een commercieel gangbaar volledig voeder verstrekt.

Tijdens de adaptatie en proefperiode wordt een melkpoeder verstrekt waarin het aminozuur lysine beperkend is voor eiwitaanzet. Lysine wordt in de verschillende behandelingen tijdens de proefperiode toenemend of afnemend supplementeerd (zie ook proefbehandelingen). De dieren worden tweemaal daags gevoerd met een tussenvoertijd van 12 uur. Er wordt geen ruwvoer verstrekt. Het voeropnamegedrag wordt per dier nauwkeurig geregistreerd i.v.m. het toewijzen van de behandelingen (totale drinktijd, voerresten, gedrag rondom voerbeurt).

6.a. Proefschema / proefbehandelingen:

Een melkpoeder met wei en tarwegluten als eiwitbronnen wordt tweemaal per dag om 6.00 en 18.00 uur aan de kalveren verstrekt. In dit melkpoeder is het aminozuur lysine het beperkende aminozuur voor eiwitaanzet.

Voor 3 kalveren is de behandeling als volgt:

1. 7 dagen op een adequaat lysineniveau (adaptatieperiode aan het grondstoffenpakket)
2. 7 dagen op een deficient lysineniveau (adaptatieperiode aan lysinedeficientie).
3. 2 weken huisvesting in klimaat en respiratiecellen waar lysine stapsgewijs (elke 2 dagen) in de tijd gesupplementeerd wordt van een deficient niveau tot een niveau waarbij maximale eiwitaanzet wordt verwacht.
4. 2 weken tussenperiode (groepshuisvesting en commercieel voer)
5. 7 dagen op een adequaat lysineniveau (adaptatieperiode aan het grondstoffenpakket)
6. 7 dagen op een hoog lysineniveau (adaptatieperiode aan hoog lysineniveau).
7. 2 weken huisvesting in klimaat en respiratiecellen waar lysine stapsgewijs (elke 2 dagen) in de tijd gesupplementeerd wordt van een niveau waarbij maximale eiwitaanzet wordt verwacht tot een deficient lysineniveau.

Bij 3 andere kalveren is de volgorde 5,6,7,4,1,2,3. Verder doorlopen 6 extra proefkalveren hetzelfde schema als hierboven beschreven maar worden alleen in de klimaat en respiratiecellen gehuisvest als de gezondheid of voeropname dit noodzakelijk maakt. Het totaal aantal proefkalveren komt hiermee op 12.

Bij punt 1,2,5, en 6 zijn de kalveren individueel gehuisvest met behoud van visueel, auditief en lichamelijk contact.

Bij punt 4 zijn de kalveren in groepen gehuisvest.

Bij punt 3 en 7 zijn de kalveren individueel in de klimaat en respiratiecellen gehuisvest met behoud van visueel en auditief contact.

Aan het voer wordt tevens het met het stabiele isotoop [13C] gelabelde aminozuur leucine toegevoegd. Dit [13C] gelabelde leucine zal minder geoxideerd worden wanneer de hoeveelheid gesupplementeerd lysine toeneemt, maar blijft constant als de lysinesupplementatie boven de behoefte komt.

Bij oxidatie van het [13C] gelabelde leucine komt het [13C] label via de ademhaling vrij als [13C] kooldioxide. Dit [13C] kooldioxide kan zeer nauwkeurig en continue gemeten worden met de apparatuur die de lucht uit de klimaat en respiratiecellen analyseert.

Uit ervaring in vorige proeven is gebleken dat uitval en met name het drinkgedrag sterk kan verschillen tussen kalveren en voor het slagen van de gekozen proefopzet is het belangrijk dat goed drinkende kalveren geselecteerd kunnen worden. De 12 proefkalveren worden geselecteerd uit een groep van 18 dieren. De zes overblijvende dieren krijgen het proefrantsoen met een adequaat lysineniveau en worden in groepen gehuisvest.

6.b. Mate van ongerief:

Proefkalveren C. Matig

Reservekalveren A. Gering

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

Ongerief proefkalveren: Geen ruwvoerverstrekking, periodiek lysine deficiënte voeding en individuele huisvesting met behoud van visueel en auditief contact.

Ongerief reservekalveren: Geen ruwvoerverstrekking, periodiek lysine deficiënte voeding en individuele huisvesting met behoud van visueel, auditief en lichamenlijk contact.

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

Anesthesie:

Proefkalveren A. Niet toegepast (geen aanleiding).

Reservekalveren A. Niet toegepast (geen aanleiding).

Pijnbestrijding:

Proefkalveren A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.

Reservekalveren A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.

Proefkalveren: Visueel en auditief contact blijft mogelijk in de klimaat en respiratiecellen en de dieren krijgen een vergrote leefruimte met zoveel mogelijk bewegingsvrijheid.

Reservekalveren: Visueel, auditief en lichamenlijk contact tussen de dieren is mogelijk en de dieren krijgen een grote leefruimte.

8. Toestand van dieren na einde van de proef:

Proefkalveren Het dier is gedood na het einde van de proef.

Reservekalveren Het dier is gedood na het einde van de proef.

Toelichting:

Na het einde van de proef worden de dieren in een slachthuis gedood.

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

Er is gekozen voor herhaalde waarnemingen aan de proefdieren (toe- en afnemende lysineopname per dier). Hierdoor kan per dier de lysinebehoefte worden geschat en zijn minder proefdieren nodig. Verder worden in deze proef dieren gebruikt uit de door de DEC goedgekeurde proef "Supplementatie van aminozuren bij kalveren", DEC protocol 2004103b, van [REDACTED] waardoor er geen nieuwe proefdieren aangevoerd hoeven te worden.

De alternatieve methoden voor het schatten van aminozuurbehoefte zijn gebaseerd op het meten van stikstofbalans bij oplopende aminozuuropname. Dit vergt in de regel tussen de 40 en 50 kalveren per experiment omdat de behoefte niet aan een individueel dier kan worden vastgesteld.

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

[REDACTED]

Proefdiervverzorgers van proefaccommodatie [REDACTED]

Tabel registratiecode opties voor aanvraag 2005027.a (K14):

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
					37	1	1	01					
Proefkalveren	1	45	5	12					01	1	1	3	2
Reservekalveren	1	45	1	6					01	1	1	1	2

Aanmeldingsformulier voor proeven met gewervelde dieren.

Secretariaat DEC

Aanvrager:
Afdeling:

Titel dierproef: Schatting van de lysinebehoefte van vleeskalveren met behulp van een [¹³C] isotopen merker techniek.

Aanmeldcode / Protocol: 2005027.b
Stadia van de proef:

09-05-2005	Aangemeld	
09-05-2005	Goedgekeurd	Secretaris van de DEC
06-04-2006	Gekopieerd	
20-04-2006	Wijzigen	Secretaris van de DEC
21-04-2006	Gekopieerd	

Is deze proef wetenschappelijk getoetst en goedgekeurd? Ja

Toelichting: project is goedgekeurd door de onderzoekscommissie van de leerstoelgroep , en maakt deel uit van de verlengingsaanvraag van het project WOB.5505 "Improving nutrient utilization by synchronization using the preruminant calf as a model" van . Dit project is door goedgekeurd en in februari 2002 ter beoordeling aan de DEC aangeboden. Over de honorering van deze verlengingsaanvraag is in april 2005 positief besloten door het bestuur.

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

Wetenschappelijke vraag m.b.t. wetensch. vraag

Er is in het verleden vaker onderzoek gedaan naar de inefficiëntie van van eiwitaanzet bij kalveren. Dat onderzoek liet opmerkelijk genoeg zien dat deze melkgevoerde kalveren (niet anaemisch!) heel anders op een toename in eiwit aanbod via het voer reageerden dan andere diersoorten in een vergelijkbare situatie. Dit heeft geleid tot het project "Verbetering van de nutriëntbenutting door synchronisatie; het vleeskalf als model" waarbinnen dit onderzoek wordt uitgevoerd.

De benutting van eiwit voor productiedoeleinden bij rundvee, zoals melkproductie bij melkkoeien en groei bij zowel rosé- als witvleeskalveren, heeft een erg lage efficiëntie (~30-40%) vergeleken met bijvoorbeeld varkens of melkgevoerde schapen (~75%). Redenen van deze slechte eiwitbenutting zijn niet duidelijk ondanks het gegeven dat de totale rundveesector erg omvangrijk is.

Een belangrijke oorzaak van de onduidelijkheid hierover is de moeilijkheid om de benutting van opgenomen aminozuren direct te kunnen onderzoeken vanwege de gecompliceerde verteringsprocessen in herkauwende dieren.

In principe zijn er twee mogelijkheden om de respons van eiwitmetabolisme op aminozuuropname zuiver te bestuderen: (1) infusie van aminozuren in de lebmaag van herkauwend rundvee, of (2) een proef met aminozuursupplementatie in niet-herkauwende kalveren. In het project is gekozen voor de niet-invasieve benadering waarbij melkgevoerde kalveren worden gebruikt als modeldier om de post-absorptieve eiwitstofwisseling bij rundvee te kunnen bestuderen.

Behalve de lage benutting van voedingseiwit in rundvee, verschilt ook de interactie tussen energie en eiwit op eiwitaanzet (zie Gerrits et al (1996) voor melkgevoerd en Schroeder et al (2004) voor herkauwend

rundvee) van die in andere dieren.

De respons op extra eiwit is het gevolg van de prioriteiten die dieren stellen voor het gebruik van voedingseiwit voor anabole of catabole processen. Het is inmiddels bekend dat een energietekort (binnen redelijke grenzen) niet de drive is voor een kalf om voedingseiwit te verbranden, terwijl een beperking van energie in andere diersoorten juist leidt tot een verhoogde verbranding van eiwit!

In het experiment dat in de aanvraag wordt beschreven wordt de respons van deze dieren op extra eiwit (of beter nog, op extra opname van een beperkend aminozuur) opnieuw bekeken, maar nu met een nieuwe techniek die een dergelijke schatting voor een individueel kalf mogelijk maakt. Dit levert ons antwoord op de vraag of dat de respons van deze dieren op extra eiwit nu echt zo bijzonder is (en afwijkend van bijv. rat, varken en mens) of dat er in het verleden (vanwege grote tussen-dier variatie) artefacten gemeten zijn. Als de eiwitstofwisseling bij runderen inderdaad anders is, vinden we in het voorgestelde onderzoek een geleidelijke respons van ^{13}C -leucine oxidatie bij een toenemende lysine opname, en geen lineair-plateau, zoals dat bij het varken en de mens vaak wordt gevonden. Dit zou betekenen dat rundvee geabsorbeerde aminozuren via een verschillend mechanisme gebruikt voor eiwit-anabolisme en dat voederstrategieën of de voersamenstelling kan worden aangepast voor een betere synchronisatie met de behoefte van de dieren (zie projectvoorstel "Verbetering van de nutriëntbenutting door synchronisatie; het vleeskalf als model). Hoewel dit onderzoek een onderzoekstool kan opleveren dat kan worden ingezet ter verhoging van de efficiëntie van het gebruik van stikstof bij kalveren heeft dit onderzoek een sterk wetenschappelijk karakter.

Inmiddels is duidelijk geworden dat [REDACTED] besloten heeft onze voortzettingsaanvraag te honoreren. Hiermee valt dit experiment ook officieel onder het project over nutriëntsynchronisatie, dat bij de start van het project ter informatie aan de DEC is aangeboden. De DEC gaf destijds aan geen problemen te hebben met de doelstelling en gehanteerde methodieken waarbij het vleeskalf als modeldier wordt gebruikt.

De achterliggende praktische reden van dit onderzoek is dus sterk wetenschappelijk, en het behelst het beter inzicht krijgen in het eiwitmetabolisme van runderen in het algemeen. Het zware vleeskalf is hier een uitstekend modeldier voor onder andere vanwege het ontbreken van de productie van microbieel eiwit door de pensflora. Hierdoor kan het aanbrengen van lebmaagfistels bij herkauwende runderen achterwege blijven.

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

In de praktische rundveehouderij wordt veel gebruik gemaakt van plantaardige eiwitbronnen. Deze eiwitbronnen hebben vaak een sub-optimaal aminozuurpatroon voor de aanzet van lichaamseiwit en worden daarom aangevuld met synthetische (vrije) aminozuren.

Indien aminozuren niet worden gebruikt voor eiwitaanzet (bij runderen is dit ongeveer 60% tot 70%) verlaat de stikstof via urine het lichaam. Een beter inzicht in het effect van de onderlinge metabole beschikbaarheid van aminozuren op de benutting ervan, kan leiden tot verbeterde eiwitbenutting en verminderde stikstofuitscheiding via urine.

Dit zou betekenen dat voederstrategieën of de voersamenstelling kan worden aangepast voor een betere synchronisatie met de behoefte van de dieren (zie evt. ook projectvoorstel "Verbetering van de nutriëntbenutting door synchronisatie; het vleeskalf als model).

1.c. Leksamenovattina:

2. Gepland vanaf: 23-05-2005 tot 14-09-2005

3. Specificatie diergroepen:

Proefkalveren	12	runderen	kalveren die in de klimaat en respiratiecellen gehuisvest worden
Reservekalveren	6	runderen	kalveren die NIET in de klimaat en respiratiecellen gehuisvest worden

4.a. Nadere aanduiding gebruikte dieren:

In de proef worden zware stierkalveren (>150kg) van het ras Holstein-Friesian gebruikt. 18 kalveren zijn aangevoerd op een leeftijd van twee weken van de [REDACTED] en worden vervolgens gedurende 15 weken op de proefaccommodatie worden gehouden tot een gewicht van 150 kg. Daarna worden 3 x 2 kalveren geselecteerd voor de proef "Supplementatie van aminozuren bij kalveren", goedgekeurd DEC protocol 2004103b, van [REDACTED].

Na afloop van deze proef zal uit de aanwezige dieren een selectie plaatsvinden op basis van gezondheid, gewicht en voeropname om als proefdier gebruikt te worden in de proef die in deze aanvraag beschreven wordt. De overige kalveren blijven als reservedieren beschikbaar voor de proef.

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

Er is gekozen voor zware pruruminale kalveren omdat deze een erg lage efficiëntie hebben waarmee voedingseiwit wordt aangezet (<40%). Verder zijn deze kalveren vanwege het ontbreken van de productie van microbieel eiwit in de pens geschikt voor de hier voorgestelde niet invasieve onderzoeksmethode in tegenstelling tot herkauwende dieren.

4.c. Toelichting voor het aantal gebruikte dieren:

Er worden drie groepen dieren gebruikt (3x6 dieren), waarvan er uiteindelijk 3x4 in de proef worden betrokken. In verband met de herhaalde waarnemingen per dier is gekozen voor het aanvoeren van 6 kalveren per groep. Uitervaring in vorige proeven is gebleken dat uitval en met name het drinkgedrag sterk kan verschillen tussen kalveren en voor het slagen van de gekozen proefopzet is het belangrijk dat goed drinkende kalveren geselecteerd kunnen worden.

4.d. Herkomst:

Proefkalveren E. andere herkomst

Reservekalveren A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland

Toelichting:

De proefdieren worden hergebruikt uit de proef "Supplementatie van aminozuren bij kalveren", goedgekeurd DEC protocol 2004103b, van [REDACTED]. Na afloop van deze proef zal uit de aanwezige dieren een selectie plaatsvinden op basis van gezondheid, gewicht en voeropname om als proefdier hergebruikt te worden in de proef die in deze aanvraag beschreven wordt.

5.a. Accommodatie: [REDACTED]

5.b. Huisvesting & Verzorging:

Voor- en tussenperiode:

Tijdens deze perioden worden kalveren dagelijks tweemaal gevoerd volgens een gangbaar, commercieel voerschema. Het voeropnamedrag per kalf wordt nauwkeurig geregistreerd en kalveren worden tweewekelijks gewogen.

Adaptatieperiode:

Tijdens de adaptatie periode word geleidelijk van het commercieel voer omgeschakeld naar het proefvoer. Het voeropnamedrag per kalf wordt nauwkeurig geregistreerd en kalveren worden tweewekelijks gewogen.

Proefperiode:

Er worden herhaalde waarnemingen aan de proefkalveren verricht. Zes proefkalveren worden 2 x 2 weken in een respiratiecel gehuisvest. Tussen deze proefperioden zit telkens een periode van 4 weken als tussen- en adaptatieperiode

Gedurende de voorperiode, adaptatie en proefperiode wordt de gezondheid van de kalveren minimaal

tweemaal daags gecontroleerd. Indien op basis van gezondheid of gedrag (m.n. voeropname) een duidelijke verslechtering wordt waargenomen, worden de dieren uit de proef verwijderd. Er wordt gedurende alle dagen van het experiment een welzijnsdagboek bijgehouden.

5.c. Voeding:

Tijdens de voor- en tussenperiode wordt een commercieel gangbaar volledig voeder verstrekt.

Tijdens de adaptatie en proefperiode wordt een melkpoeder verstrekt waarin het aminozuur lysine beperkend is voor eiwitaanzet. Lysine wordt in de verschillende behandelingen tijdens de proefperiode toenemend of afnemend supplementeerd (zie ook proefbehandelingen). De dieren worden tweemaal daags gevoerd met een tussenvoertijd van 12 uur. Er wordt geen ruwvoer verstrekt. Het voeropnamedrag wordt per dier nauwkeurig geregistreerd i.v.m. het toewijzen van de behandelingen (totale drinktijd, voerresten, gedrag rondom voerbeurt).

6.a. Proefschema / proefbehandelingen:

Een melkpoeder met wei en tarwegluten als eiwitbronnen wordt tweemaal per dag om 6.00 en 18.00 uur aan de kalveren verstrekt. In dit melkpoeder is het aminozuur lysine het beperkende aminozuur voor eiwitaanzet.

Voor 3 kalveren is de behandeling als volgt:

1. 7 dagen op een adequaat lysineniveau (adaptatieperiode aan het grondstoffenpakket)
2. 7 dagen op een deficient lysineniveau (adaptatieperiode aan lysinedeficientie).
3. 2 weken huisvesting in klimaat en respiratiecellen waar lysine stapsgewijs (elke 2 dagen) in de tijd gesupplementeerd wordt van een deficient niveau tot een niveau waarbij maximale eiwitaanzet wordt verwacht.
4. 2 weken tussenperiode (groepshuisvesting en commercieel voer)
5. 7 dagen op een adequaat lysineniveau (adaptatieperiode aan het grondstoffenpakket)
6. 7 dagen op een hoog lysineniveau (adaptatieperiode aan hoog lysineniveau).
7. 2 weken huisvesting in klimaat en respiratiecellen waar lysine stapsgewijs (elke 2 dagen) in de tijd gesupplementeerd wordt van een niveau waarbij maximale eiwitaanzet wordt verwacht tot een deficient lysineniveau.

Bij 3 andere kalveren is de volgorde 5,6,7,4,1,2,3. Verder doorlopen 6 extra proefkalveren hetzelfde schema als hierboven beschreven maar worden alleen in de klimaat en respiratiecellen gehuisvest als de gezondheid of voeropname dit noodzakelijk maakt. Het totaal aantal proefkalveren komt hiermee op 12.

Bij punt 1,2,5, en 6 zijn de kalveren individueel gehuisvest met behoud van visueel, auditief en lichamelijk contact.

Bij punt 4 zijn de kalveren in groepen gehuisvest.

Bij punt 3 en 7 zijn de kalveren individueel in de klimaat en respiratiecellen gehuisvest met behoud van visueel en auditief contact.

Aan het voer wordt tevens het met het stabiele isotoop $[^{13}\text{C}]$ gelabelde aminozuur leucine toegevoegd. Dit $[^{13}\text{C}]$ gelabelde leucine zal minder geoxideerd worden wanneer de hoeveelheid gesupplementeerd lysine toeneemt, maar blijft constant als de lysinesupplementatie boven de behoefte komt.

Bij oxidatie van het $[^{13}\text{C}]$ gelabelde leucine komt het $[^{13}\text{C}]$ label via de ademhaling vrij als $[^{13}\text{C}]$ kooldioxide. Dit $[^{13}\text{C}]$ kooldioxide kan zeer nauwkeurig en continue gemeten worden met de apparatuur die de lucht uit de klimaat en respiratiecellen analyseert.

Uit ervaring in vorige proeven is gebleken dat uitval en met name het drinkgedrag sterk kan verschillen tussen kalveren en voor het slagen van de gekozen proefopzet is het belangrijk dat goed drinkende kalveren geselecteerd kunnen worden. De 12 proefkalveren worden geselecteerd uit een groep van 18 dieren. De zes overblijvende dieren krijgen het proefrantsoen met een adequaat lysineniveau en worden in groepen gehuisvest.

6.b. Mate van ongerief:

Proefkalveren C. Matig
Reservekalveren A. Gering

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

Ongerief proefkalveren: Geen ruwvoerverstrekking, periodiek lysine deficiënte voeding en individuele huisvesting met behoud van visueel en auditief contact.

Ongerief reservekalveren: Geen ruwvoerverstrekking, periodiek lysine deficiënte voeding en individuele huisvesting met behoud van visueel, auditief en lichamelijk contact.

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

Anesthesie:

Proefkalveren A. Niet toegepast (geen aanleiding).
Reservekalveren A. Niet toegepast (geen aanleiding).

Pijnbestrijding:

Proefkalveren A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
Reservekalveren A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.

Proefkalveren: Visueel en auditief contact blijft mogelijk in de klimaat en respiratiecellen en de dieren krijgen een vergrote leefruimte met zoveel mogelijk bewegingsvrijheid.

Reservekalveren: Visueel, auditief en lichamelijk contact tussen de dieren is mogelijk en de dieren krijgen een grote leefruimte.

8. Toestand van dieren na einde van de proef:

Proefkalveren Het dier is gedood na het einde van de proef.
Reservekalveren Het dier is gedood na het einde van de proef.

Toelichting:

Na het einde van de proef worden de dieren in een slachthuis gedood.

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

Er is gekozen voor herhaalde waarnemingen aan de proefdieren (toe- en afnemende lysineopname per dier). Hierdoor kan per dier de lysinebehoefte worden geschat en zijn minder proefdieren nodig. Verder worden in deze proef dieren gebruikt uit de door de DEC goedgekeurde proef "Supplementatie van aminozuren bij kalveren", DEC protocol 2004103b, van [REDACTED] waardoor er geen nieuwe proefdieren aangevoerd hoeven te worden.

De alternatieve methoden voor het schatten van aminozuurbehoefte zijn gebaseerd op het meten van stikstofbalans bij oplopende aminozuuropname of het gebruik van gefistuleerde dieren. Het meten van de stikstofbalans vergt in de regel tussen de 40 en 50 kalveren per experiment omdat de behoefte niet aan een individueel dier kan worden vastgesteld. Het gebruik van gefistuleerde dieren vereist invasieve ingrepen bij de proefdieren. De in dit onderzoek voorgestelde [¹³C] isotopen merker techniek is niet invasief en vergt weinig dieren.

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

[REDACTED]

Proefdiervverzorgers van proefaccommodatie [REDACTED]

"

Tabel registratiecode opties voor aanvraag 2005027.b (K14):

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
					37	1	1	01					
Proefkalveren	1	45	5	12					01	1	1	3	2
Reservekalveren	1	45	1	6					01	1	1	1	2

Aanmeldingsformulier voor proeven met gewervelde dieren.

[Redacted]

Aanvrager:

Afdeling:

[Redacted]

Titel dierproef: Schatting van de lysinebehoefte van vleeskalveren met behulp van een [¹³C] isotopen merker techniek.

Aanmeldcode / Protocol: 2005027.c

Stadia van de proef:

21-04-2006	Aangemeld	[Redacted]
25-04-2006	Goedgekeurd	Secretaris van de DEC
17-08-2006	Wijzigen	[Redacted]
25-08-2006	Gekopieerd	[Redacted]

Is deze proef wetenschappelijk getoetst en goedgekeurd? Ja

Toelichting: project is goedgekeurd door de onderzoekscommissie van de leerstoelgroep [Redacted] en maakt deel uit van de verlengingsaanvraag van het [Redacted] project WOB.5505 "Improving nutrient utilization by synchronization using the preruminant calf as a model". Dit onderzoek is door [Redacted] goedgekeurd en in februari 2002 ter beoordeling aan de DEC aangeboden. De verlengingsaanvraag is in april 2005 gehonoreerd door het bestuur van [Redacted].

Deze DEC-aanvraag is (in gewijzigde vorm) in mei 2005 goedgekeurd, maar kon vanwege bezetting van de onderzoeksfaciliteiten toen niet plaatsvinden.

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

Wetenschappelijke vraag m.b.t. wetensch. vraag

Doelstelling van het onderzoek is vaststelling van de lysinebehoefte en de marginale eiwitbenutting bij vleeskalveren.

Er is in het verleden vaker onderzoek gedaan naar de inefficiëntie van eiwitaanzet bij kalveren (slechts 30-40% van het eiwit wordt benut). Dat onderzoek liet opmerkelijk genoeg zien dat de eiwitbenutting in vleeskalveren nauwelijks werd beïnvloed door supplementatie van een beperkend aminozuur. Dit is tegenstrijdig met andere diersoorten in een vergelijkbare situatie. Waarschijnlijk is de methodiek (een groot aandeel synthetische aminozuren in de voeding in combinatie met balansproeven) en de grote variatie tussen dieren een oorzaak van het niet vinden van een optimale aminozuurgift. Een nieuwe techniek maakt het mogelijk om de aminozuurbehoefte 'binnen een dier' te meten (¹³C-merker techniek).

Door een niet-beperkend ¹³C-aminozuur via de voeding te verstrekken en vervolgens de ¹³CO₂ productie te meten, kan de benutting van dit niet-beperkende aminozuur worden gemeten. Het aminozuur dat wél beperkend is wordt stapsgewijs in grotere hoeveelheden toegevoegd. Met een toenemende toevoeging van het beperkende aminozuur zal er minder van het niet-beperkende ¹³C-aminozuur worden verbrand omdat dit wordt aangezet in lichaamseiwit. Uiteindelijk wordt een plateau bereikt waarop het eerst beperkende aminozuur niet meer beperkend is voor eiwitaanzet. Dit is de aminozuurbehoefte van het kalf.

Voordelen van deze techniek zijn: minder dieren nodig, meting binnen dier, snelle methode, non-invasieve benadering,

We verwachten dat een lineair-plateau relatie wordt verkregen. Indien dit niet het geval is, betekent het dat het eiwitmetabolisme in kalveren werkelijk afwijkend is van bijv. rat, varken en mens. Bovendien wordt het kalf gebruikt als modeldier voor het post-absorptieve aminozuurmetabolisme in herkauwers (waarin dergelijk onderzoek wordt belemmerd doordat de aminozuursamenstelling in de pens verandert) en kunnen resultaten ook relevant zijn voor de eiwitstofwisseling in herkauwende runderen.

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

In de praktische kalverhouderij wordt in toenemende mate gebruik gemaakt van plantaardige eiwitbronnen. Deze eiwitbronnen hebben vaak een sub-optimaal aminozuurpatroon voor de aanzet van lichaamseiwit en worden daarom aangevuld met synthetische (vrije) aminozuren. Indien aminozuren niet worden gebruikt voor eiwitaanzet (bij runderen is dit ongeveer 60% tot 70%) verlaat de stikstof via urine het lichaam. Een beter inzicht in de aminozuurbehoefte van kalveren kan leiden tot een betere supplementatie van synthetische aminozuren aan plantaardige eiwitbronnen waardoor de eiwitbenutting wordt verbeterd en de stikstofuitscheiding via urine wordt verminderd. Het concept kan tevens worden gebruikt voor de post-absorptieve aminozuurbehoefte in groeiende herkauwers.

1.c. Lekensamenvatting:

2. Gepland vanaf: 15-05-2006 tot 18-12-2006

3. Specificatie diergroepen:

Proefkalveren	12	runderen	kalveren die in de klimaat en respiratiecellen gehuisvest worden
Reservekalveren	6	runderen	kalveren die niet in de klimaat en respiratiecellen gehuisvest worden

4.a. Nadere aanduiding gebruikte dieren:

In de proef worden zware stierkalveren (>150 kg) van het ras Holstein-Friesian gebruikt. Achttien kalveren worden aangevoerd op een leeftijd van twee weken en worden vervolgens gedurende 3 maanden op de proefaccommodatie gehouden tot een gewicht van 150 kg.

Twaalf kalveren worden geselecteerd op basis van gezondheid, gewicht en voeropname om te worden in de proef. De overige zes kalveren blijven als reservedieren beschikbaar voor de proef.

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

Er is gekozen voor melkgevoerde kalveren omdat deze een erg lage efficiëntie hebben waarmee voedingseiwit wordt aangezet (<40%). Verder zijn deze kalveren vanwege het ontbreken van de productie van microbieel eiwit in de pens geschikt voor de hier voorgestelde niet invasieve onderzoeksmethode in tegenstelling tot herkauwende dieren.

4.c. Toelichting voor het aantal gebruikte dieren:

Twaalf dieren zijn noodzakelijk vanwege de grote verschillen in eiwitbenutting tussen dieren (35-45% bij dezelfde behandeling). Een respons wordt binnen dieren verwacht. De spreiding van de optimale lysinegift tussen dieren is echter onduidelijk. Uit ervaring in vorige proeven is gebleken dat uitval en met name het drinkgedrag sterk kan verschillen tussen kalveren en voor het slagen van de gekozen proefopzet is het belangrijk dat goed drinkende kalveren geselecteerd kunnen worden.

4.d. Herkomst:

Proefkalveren	A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland
Reservekalveren	A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland

Toelichting:

De proefdieren worden als jonge kalveren (ong. 45 kg) aangevoerd van het proefbedrijf van XXXXXXXXXX

Bij 6 andere kalveren is de volgorde 4,5,6,1,2,3. Verder doorlopen 6 reservekalveren hetzelfde schema

maar worden niet in respiratiecellen gehuisvest.

6.b. Mate van ongerief:

Proefkalveren C. Matig
Reservekalveren A. Gering

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

Ongerief proefkalveren: Geen ruwvoerverstrekking, periodiek lysine deficiënte voeding en individuele huisvesting met behoud van visueel en auditief contact. Bevestiging tuigje voor gescheiden verzamelen van mest en urine.

Ongerief reservekalveren: Geen ruwvoerverstrekking, periodiek lysine deficiënte voeding en individuele huisvesting met behoud van visueel, auditief en lichamelijk contact.

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

Anesthesie:

Proefkalveren A. Niet toegepast (geen aanleiding).
Reservekalveren A. Niet toegepast (geen aanleiding).

Pijnbestrijding:

Proefkalveren A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
Reservekalveren A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.

Proefkalveren: Visueel en auditief contact blijft mogelijk in de klimaat en respiratiecellen en de balanskooien zijn verlengd en verbreed voor een vergrote leefruimte.

Reservekalveren: Visueel, auditief en lichamelijk contact tussen de dieren is mogelijk en de dieren krijgen een grote leefruimte.

8. Toestand van dieren na einde van de proef:

Proefkalveren Het dier is gedood na het einde van de proef.
Reservekalveren Het dier is gedood na het einde van de proef.

Toelichting:

Na het einde van de proef worden de dieren in een slachthuis gedood.

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

Er is gekozen voor herhaalde waarnemingen aan de proefdieren (toe- en afnemende lysineopname per dier). Hierdoor kan per dier de lysinebehoefte worden geschat en zijn minder proefdieren nodig.

De alternatieve methoden voor het schatten van aminozuurbehoefte zijn gebaseerd op het meten van stikstofbalans bij oplopende aminozuuropname of het gebruik van lebmaag-gefistuleerde herkauwers. Het meten van de stikstofbalans vergt in de regel tussen de 40 en 50 kalveren per experiment omdat de behoefte niet aan een individueel dier kan worden vastgesteld. Het gebruik van gefistuleerde dieren vereist invasieve ingrepen bij de proefdieren. De in dit onderzoek voorgestelde ¹³C-merker techniek is niet invasief en behoeft relatief weinig dieren.

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



Proefdierversorgers van proefaccomodatie

Tabel registratiecode opties voor aanvraag 2005027.c (K14):

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
					37	1	1	01					
Proefkalveren	1	45	1	12					01	1	1	3	2
Reservekalveren	1	45	1	6					01	1	1	1	2

Aanmeldingsformulier voor proeven met gewervelde dieren.

[Redacted]

Aanvrager:

Afdeling:

[Redacted]

Titel dierproef: Schatting van de lysinebehoefte van vleeskalveren met behulp van een [13C] isotopen merker techniek.

Aanmeldcode / Protocol: 2005027.d

Stadia van de proef:

28-08-2006	Aangemeld	[Redacted]
28-08-2006	Wijzigen	Secretaris van de DEC
28-08-2006	Gekopieerd	[Redacted]

Is deze proef wetenschappelijk getoetst en goedgekeurd? Ja

Toelichting: project is goedgekeurd door de onderzoekscommissie van de leerstoelgroep [Redacted] en maakt deel uit van de verlengingsaanvraag van het [Redacted] project WOB.5505 "Improving nutrient utilization by synchronization using the preruminant calf as a model". Dit onderzoek is door [Redacted] goedgekeurd en in februari 2002 ter beoordeling aan de DEC aangeboden. De verlengingsaanvraag is in april 2005 gehonoreerd door het bestuur van [Redacted].

Deze DEC-aanvraag is (in gewijzigde vorm) in mei 2005 goedgekeurd, maar kon vanwege bezetting van de onderzoeksfaciliteiten toen niet plaatsvinden.

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

. Wetenschappelijke vraag m.b.t. wetensch. vraag

Doelstelling van het onderzoek is vaststelling van de lysinebehoefte en de marginale eiwitbenutting bij vleeskalveren.

Er is in het verleden vaker onderzoek gedaan naar de inefficiëntie van eiwitaanzet bij kalveren (slechts 30-40% van het eiwit wordt benut). Dat onderzoek liet opmerkelijk genoeg zien dat de eiwitbenutting in vleeskalveren nauwelijks werd beïnvloed door supplementatie van een beperkend aminozuur. Dit is tegenstrijdig met andere diersoorten in een vergelijkbare situatie. Waarschijnlijk is de methodiek (een groot aandeel synthetische aminozuren in de voeding in combinatie met balansproeven) en de grote variatie tussen dieren een oorzaak van het niet vinden van een optimale aminozuurgift. Een nieuwe techniek maakt het mogelijk om de aminozuurbehoefte 'binnen een dier' te meten (13C-merker techniek).

Door een niet-beperkend 13C-aminozuur via de voeding te verstrekken en vervolgens de 13CO₂ productie te meten, kan de benutting van dit niet-beperkende aminozuur worden gemeten. Het aminozuur dat wél beperkend is wordt stapsgewijs in grotere hoeveelheden toegevoegd. Met een toenemende toevoeging van het beperkende aminozuur zal er minder van het niet-beperkende 13C-aminozuur worden verbrand omdat dit wordt aangezet in lichaamseiwit. Uiteindelijk wordt een plateau bereikt waarop het eerst beperkende aminozuur niet meer beperkend is voor eiwitaanzet. Dit is de aminozuurbehoefte van het kalf.

Voordelen van deze techniek zijn: minder dieren nodig, meting binnen dier en een snelle methode.

We verwachten dat een lineair-plateau relatie wordt verkregen. Indien dit niet het geval is, betekent het dat het eiwitmetabolisme in kalveren werkelijk afwijkend is van bijv. rat, varken en mens. Bovendien wordt het kalf gebruikt als modeldier voor het post-absorptieve aminozuurmetabolisme in herkauwers (waarin dergelijk onderzoek wordt belemmerd doordat de aminozuursamenstelling in de pens verandert) en kunnen resultaten ook relevant zijn voor de eiwitstofwisseling in herkauwende runderen.

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

In de praktische kalverhouderij wordt in toenemende mate gebruik gemaakt van plantaardige eiwitbronnen. Deze eiwitbronnen hebben vaak een sub-optimaal aminozuurpatroon voor de aanzet van lichaamseiwit en worden daarom aangevuld met synthetische (vrije) aminozuren. Indien aminozuren niet worden gebruikt voor eiwitaanzet (bij runderen is dit ongeveer 60% tot 70%) verlaat de stikstof via urine het lichaam. Een beter inzicht in de aminozuurbehoefte van kalveren kan leiden tot een betere supplementatie van synthetische aminozuren aan plantaardige eiwitbronnen waardoor de eiwitbenutting wordt verbeterd en de stikstofuitscheiding via urine wordt verminderd. Het concept kan tevens worden gebruikt voor de post-absorptieve aminozuurbehoefte in groeiende herkauwers.

1.c. Leksamenvatting:

2. Gepland vanaf: 29-08-2006 tot 18-12-2006

3. Specificatie diergroepen:

Proefkalveren 6	runderen	kalveren die in de klimaat en respiratiecellen gehuisvest worden
Reservekalveren 12	runderen	kalveren die niet in de klimaat en respiratiecellen gehuisvest worden

4.a. Nadere aanduiding gebruikte dieren:

In de proef worden zware stierkalveren (>150 kg) van het ras Holstein-Friesian gebruikt. Achttien kalveren worden aangevoerd op een leeftijd van twee weken en worden vervolgens gedurende 3 maanden op de proefaccommodatie gehouden tot een gewicht van 150 kg.

Zes kalveren worden geselecteerd op basis van gezondheid, gewicht en voeropname om te worden in de proef. De overige twaalf kalveren blijven als reservedieren beschikbaar voor de proef.

Door het nemen van bloedmonsters (om de 2 dagen, 1 monster voor en 5 monsters na een voerbeurt in 60-min intervallen) is het aantal proefdieren teruggebracht van 12 naar 6.

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

Er is gekozen voor melkgevoerde kalveren omdat deze een erg lage efficiëntie hebben waarmee voedingseiwit wordt aangezet (<40%). Verder zijn deze kalveren vanwege het ontbreken van de productie van microbieel eiwit in de pens geschikt voor de hier voorgestelde niet invasieve onderzoeksmethode in tegenstelling tot herkauwende dieren.

4.c. Toelichting voor het aantal gebruikte dieren:

Zes dieren zijn noodzakelijk vanwege de grote verschillen in eiwitbenutting tussen dieren (35-45% bij dezelfde behandeling). Een respons wordt binnen dieren verwacht. De spreiding van de optimale lysinegift tussen dieren is echter onduidelijk. Uit ervaring in vorige proeven is gebleken dat uitval en met name het drinkgedrag sterk kan verschillen tussen kalveren en voor het slagen van de gekozen proefopzet is het belangrijk dat goed drinkende kalveren geselecteerd kunnen worden.

Het aantal proefdieren is teruggebracht van 12 naar 6 door meting van de precursor-pool van het indirecte aminozuur (bloedmonstername).

4.d. Herkomst:

Proefkalveren	A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland
Reservekalveren	A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland

Toelichting:

De proefdieren worden als jonge kalveren (ong. 45 kg) aangevoerd van het proefbedrijf van [REDACTED]. Dieren worden gedurende 3 maanden opgefokt op proefaccommodatie [REDACTED].

5.a. Accommodatie: [REDACTED]**5.b. Huisvesting & Verzorging:**

Opfokperiode (3 maanden):

Tijdens deze perioden worden kalveren dagelijks tweemaal gevoerd volgens een gangbaar, commercieel voerschema. Het voeropnamegedrag per kalf wordt nauwkeurig geregistreerd en kalveren worden wekelijks gewogen. Kalveren worden individueel gehuisvest in grote hokken waarin ze kunnen rondlopen.

Adaptatieperiode:

Tijdens de adaptatie periode wordt geleidelijk van het commercieel voer omgeschakeld naar het proefvoer. Het voeropnamegedrag per kalf wordt nauwkeurig geregistreerd en kalveren worden wekelijks gewogen. Gedurende de eerste 3 weken wordt het proefvoer aangevuld met een (verwachte) adequate hoeveelheid lysine. Tijdens de vierde week vindt adaptatie aan het experimentele lysineniveau plaats (zie behandelingen). Kalveren worden individueel gehuisvest in grote hokken waarin ze kunnen rondlopen. Vier dagen voor de start van de proef worden kalveren op verlengde balanskooien gehuisvest.

Proefperiode:

Er worden herhaalde waarnemingen aan de proefkalveren verricht. Zes proefkalveren worden 2 x 2 weken in een respiratiecel op een verlengde balanskooi gehuisvest. Tussen de proefperioden zit een periode van 4 weken (zie Adaptatieperiode).

Proefkalveren krijgen één catheter in de halsader tijdens de proefperiode. Er worden om de 2 dagen 6 bloedmonsters genomen (1x voor de voerbeurt, 5x na de voerbeurt in 60-min intervallen). Het volume per bloedmonster is 8 ml.

Gedurende de voorperiode, adaptatie en proefperiode wordt de gezondheid van de kalveren minimaal tweemaal daags gecontroleerd. Indien op basis van gezondheid of gedrag (m.n. voeropname) een duidelijke verslechtering wordt waargenomen, worden de dieren uit de proef verwijderd. Er wordt gedurende alle dagen van het experiment een welzijnsdagboek bijgehouden.

5.c. Voeding:

Tijdens de opfokperiode wordt een commercieel gangbaar volledig voeder verstrekt.

Tijdens de adaptatie en proefperiode wordt een melkpoeder verstrekt waarin het aminozuur lysine beperkend is voor eiwitaanzet. Lysine wordt in de verschillende behandelingen tijdens de proefperiode toenemend of afnemend supplementeerd (zie ook proefbehandelingen). De dieren worden tweemaal daags gevoerd met een tussenvoertijd van 12 uur. Er wordt geen ruwvoer verstrekt. Het voeropnamegedrag wordt per dier nauwkeurig geregistreerd (voerresten, gedrag rondom voerbeurt).

6.a. Proefschema / proefbehandelingen:

Een melkpoeder met wei en tarwegluten als eiwitbronnen wordt tweemaal per dag om 6.00 en 18.00 uur aan de kalveren verstrekt. In dit melkpoeder is het aminozuur lysine het beperkende aminozuur voor eiwitaanzet.

Voor 3 kalveren is de behandeling als volgt:

1. 3 weken op een adequaat lysineniveau
2. 7 dagen op een deficient lysineniveau (adaptatieperiode aan lysinedeficientie).
3. 2 weken huisvesting in klimaatrespiratiecel waar lysinegift stapsgewijs (elke 2 dagen) toeneemt van een deficient niveau tot een niveau waarin lysine boven de waarschijnlijke behoefte wordt verstrekt.

4. 3 weken op een adequaat lysineniveau
5. 7 dagen op een hoog lysineniveau (adaptatieperiode aan hoog lysineniveau).
6. 2 weken huisvesting in klimaat en respiratiecellen waar lysine stapsgewijs (elke 2 dagen) in de tijd gesupplementeerd wordt van een hoog niveau tot een deficient lysineniveau.

Bij 3 andere kalveren is de volgorde 4,5,6,1,2,3. Verder doorlopen 6 reservekalveren hetzelfde schema maar worden niet in respiratiecellen gehuisvest.

6.b. Mate van ongerief:

Proefkalveren	C. Matig
Reservekalveren	A. Gering

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

Ongerief proefkalveren: Geen ruwvoerverstrekking, periodiek lysine deficiënte voeding en individuele huisvesting met behoud van visueel en auditief contact. Bevestiging tuigje voor gescheiden verzamelen van mest en urine. Inbrengen van één catheter in de halsader.

Ongerief reservekalveren: Geen ruwvoerverstrekking, periodiek lysine deficiënte voeding en individuele huisvesting met behoud van visueel, auditief en lichamelijk contact.

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

Anesthesie:

Proefkalveren	A. Niet toegepast (geen aanleiding).
Reservekalveren	A. Niet toegepast (geen aanleiding).

Pijnbestrijding:

Proefkalveren	A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
Reservekalveren	A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.

Proefkalveren: Visueel en auditief contact blijft mogelijk in de klimaat en respiratiecellen en de balanskooien zijn verlengd en verbreed voor een vergrote leefruimte.

Reservekalveren: Visueel, auditief en lichamelijk contact tussen de dieren is mogelijk en de dieren krijgen een grote leefruimte.

8. Toestand van dieren na einde van de proef:

Proefkalveren	Het dier is gedood na het einde van de proef.
Reservekalveren	Het dier is gedood na het einde van de proef.

Toelichting:

Na het einde van de proef worden de dieren in een slachthuis gedood.

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

Er is gekozen voor herhaalde waarnemingen aan de proefdieren (toe- en afnemende lysineopname per dier). Hierdoor kan per dier de lysinebehoefte worden geschat en zijn minder proefdieren nodig.

De alternatieve methoden voor het schatten van aminozuurbehoefte zijn gebaseerd op het meten van stikstofbalans bij oplopende aminozuuropname of het gebruik van lebmaag-gefistuleerde herkauwers. Het meten van de stikstofbalans vergt in de regel tussen de 40 en 50 kalveren per experiment omdat de behoefte niet aan een individueel dier kan worden vastgesteld. Het gebruik van gefistuleerde dieren vereist invasieve ingrepen bij de proefdieren. De in dit onderzoek voorgestelde ¹³C-merker techniek minder invasief en behoeft weinig dieren.

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



Proefdierverzorgers van proefaccomodatíe [REDACTED]

Tabel registratiecode opties voor aanvraag 2005027.d (K14):

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
					37	1	1	01					
<u>Proefkalveren</u>	<u>1</u>	<u>45</u>	<u>1</u>	<u>6</u>					<u>01</u>	<u>1</u>	<u>1</u>	<u>3</u>	<u>2</u>
<u>Reservekalveren</u>	<u>1</u>	<u>45</u>	<u>1</u>	<u>12</u>					<u>01</u>	<u>1</u>	<u>1</u>	<u>1</u>	<u>2</u>

Aanmeldingsformulier voor proeven met gewervelde dieren.

Aanvrager: [REDACTED]

Afdeling: [REDACTED]

Titel dierproef: Schatting van de lysinebehoefte van vleeskalveren met behulp van een [13C] isotopen merker techniek.

Aanmeldcode / Protocol: 2005027.e

Stadia van de proef:

28-08-2006	Aangemeld	[REDACTED]
29-08-2006	Wijzigen	Secretaris van de DEC
29-08-2006	Gekopieerd	[REDACTED]

Is deze proef wetenschappelijk getoetst en goedgekeurd? Ja

Toelichting: project is goedgekeurd door de onderzoekscommissie van de leerstoelgroep [REDACTED] en maakt deel uit van de verlengingsaanvraag van het [REDACTED] project WOB.5505 "Improving nutrient utilization by synchronization using the preruminant calf as a model". Dit onderzoek is door [REDACTED] goedgekeurd en in februari 2002 ter beoordeling aan de DEC aangeboden. De verlengingsaanvraag is in april 2005 gehonoreerd door het bestuur van [REDACTED].

Deze DEC-aanvraag is (in gewijzigde vorm) in mei 2005 goedgekeurd, maar kon vanwege bezetting van de onderzoeksfaciliteiten toen niet plaatsvinden.

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

. Wetenschappelijke vraag m.b.t. wetensch. vraag

Doelstelling van het onderzoek is vaststelling van de lysinebehoefte en de marginale eiwitbenutting bij vleeskalveren.

Er is in het verleden vaker onderzoek gedaan naar de inefficiëntie van eiwitaanzet bij kalveren (slechts 30-40% van het eiwit wordt benut). Dat onderzoek liet opmerkelijk genoeg zien dat de eiwitbenutting in vleeskalveren nauwelijks werd beïnvloed door supplementatie van een beperkend aminozuur. Dit is tegenstrijdig met andere diersoorten in een vergelijkbare situatie. Waarschijnlijk is de methodiek (een groot aandeel synthetische aminozuren in de voeding in combinatie met balansproeven) en de grote variatie tussen dieren een oorzaak van het niet vinden van een optimale aminozuurgift. Een nieuwe techniek maakt het mogelijk om de aminozuurbehoefte 'binnen een dier' te meten (13C-merker techniek).

Door een niet-beperkend 13C-aminozuur via de voeding te verstrekken en vervolgens de 13CO₂ productie te meten, kan de benutting van dit niet-beperkende aminozuur worden gemeten. Het aminozuur dat wél beperkend is wordt stapsgewijs in grotere hoeveelheden toegevoegd. Met een toenemende toevoeging van het beperkende aminozuur zal er minder van het niet-beperkende 13C-aminozuur worden verbrand omdat dit wordt aangezet in lichaamseiwit. Uiteindelijk wordt een plateau bereikt waarop het eerst beperkende aminozuur niet meer beperkend is voor eiwitaanzet. Dit is de aminozuurbehoefte van het kalf.

Voordelen van deze techniek zijn: minder dieren nodig, meting binnen dier en een snelle methode.

We verwachten dat een lineair-plateau relatie wordt verkregen. Indien dit niet het geval is, betekent het dat het eiwitmetabolisme in kalveren werkelijk afwijkend is van bijv. rat, varken en mens. Bovendien wordt het kalf gebruikt als modeldier voor het post-absorptieve aminozuurmetabolisme in herkauwers (waarin dergelijk onderzoek wordt belemmerd doordat de aminozuursamenstelling in de pens verandert) en kunnen resultaten ook relevant zijn voor de eiwitstofwisseling in herkauwende runderen.

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

In de praktische kalverhouderij wordt in toenemende mate gebruik gemaakt van plantaardige eiwitbronnen. Deze eiwitbronnen hebben vaak een sub-optimaal aminozuurpatroon voor de aanzet van lichaamseiwit en worden daarom aangevuld met synthetische (vrije) aminozuren. Indien aminozuren niet worden gebruikt voor eiwitaanzet (bij runderen is dit ongeveer 60% tot 70%) verlaat de stikstof via urine het lichaam. Een beter inzicht in de aminozuurbehoefte van kalveren kan leiden tot een betere supplementatie van synthetische aminozuren aan plantaardige eiwitbronnen waardoor de eiwitbenutting wordt verbeterd en de stikstofuitscheiding via urine wordt verminderd. Het concept kan tevens worden gebruikt voor de post-absorptieve aminozuurbehoefte in groeiende herkauwers.

1.c. Lekensamenvatting:

2. Gepland vanaf: 29-08-2006 tot 18-12-2006

3. Specificatie diergroepen:

Proefkalveren 6	runderen	kalveren die in de klimaat en respiratiecellen gehuisvest worden
Reservekalveren 12	runderen	kalveren die niet in de klimaat en respiratiecellen gehuisvest worden

4.a. Nadere aanduiding gebruikte dieren:

In de proef worden zware stierkalveren (>150 kg) van het ras Holstein-Friesian gebruikt. Achttien kalveren worden aangevoerd op een leeftijd van twee weken en worden vervolgens gedurende 3 maanden op de proefaccommodatie gehouden tot een gewicht van 150 kg.

Zes kalveren worden geselecteerd op basis van gezondheid, gewicht en voeropname om te worden in de proef. De overige twaalf kalveren blijven als reservedieren beschikbaar voor de proef.

Door het nemen van bloedmonsters (om de 2 dagen, 1 monster voor en 5 monsters na een voerbeurt in 60-min intervallen) is het aantal proefdieren teruggebracht van 12 naar 6.

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

Er is gekozen voor melkgevoerde kalveren omdat deze een erg lage efficiëntie hebben waarmee voedingseiwit wordt aangezet (<40%). Verder zijn deze kalveren vanwege het ontbreken van de productie van microbieel eiwit in de pens geschikt voor de hier voorgestelde niet invasieve onderzoeksmethode in tegenstelling tot herkauwende dieren.

4.c. Toelichting voor het aantal gebruikte dieren:

Zes dieren zijn noodzakelijk vanwege de grote verschillen in eiwitbenutting tussen dieren (35-45% bij dezelfde behandeling). Een respons wordt binnen dieren verwacht. De spreiding van de optimale lysinegift tussen dieren is echter onduidelijk. Uit ervaring in vorige proeven is gebleken dat uitval en met name het drinkgedrag sterk kan verschillen tussen kalveren en voor het slagen van de gekozen proefopzet is het belangrijk dat goed drinkende kalveren geselecteerd kunnen worden.

Het aantal proefdieren is teruggebracht van 12 naar 6 door meting van de precursor-pool van het indirecte aminozuur (bloedmonsternamen).

4.d. Herkomst:

Proefkalveren	A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland
Reservekalveren	A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland

Toelichting:

De proefdieren worden als jonge kalveren (ong. 45 kg) aangevoerd van het proefbedrijf van [REDACTED]. Dieren worden gedurende 3 maanden opgefokt op proefaccommodatie [REDACTED].

5.a. Accommodatie: [REDACTED]**5.b. Huisvesting & Verzorging:**

Opfokperiode (3 maanden):

Tijdens deze perioden worden kalveren dagelijks tweemaal gevoerd volgens een gangbaar, commercieel voerschema. Het voeropnamegedrag per kalf wordt nauwkeurig geregistreerd en kalveren worden wekelijks gewogen. Kalveren worden individueel gehuisvest in grote hokken waarin ze kunnen rondlopen.

Adaptatieperiode:

Tijdens de adaptatie periode wordt geleidelijk van het commercieel voer omgeschakeld naar het proefvoer. Het voeropnamegedrag per kalf wordt nauwkeurig geregistreerd en kalveren worden wekelijks gewogen. Gedurende de eerste 3 weken wordt het proefvoer aangevuld met een (verwachte) adequate hoeveelheid lysine. Tijdens de vierde week vindt adaptatie aan het experimentele lysineniveau plaats (zie behandelingen). Kalveren worden individueel gehuisvest in grote hokken waarin ze kunnen rondlopen. Vier dagen voor de start van de proef worden kalveren op verlengde balanskooien gehuisvest.

Proefperiode:

Er worden herhaalde waarnemingen aan de proefkalveren verricht. Zes proefkalveren worden 2 x 2 weken in een respiratiecel op een verlengde balanskooi gehuisvest. Tussen de proefperiodes zit een periode van 4 weken (zie Adaptatieperiode).

Proefkalveren krijgen één catheter in de halsader tijdens de proefperiode. Er worden om de 2 dagen 6 bloedmonsters genomen (1x voor de voerbeurt, 5x na de voerbeurt in 60-min intervallen). Het volume per bloedmonster is 8 ml.

Gedurende de voorperiode, adaptatie en proefperiode wordt de gezondheid van de kalveren minimaal tweemaal daags gecontroleerd. Indien op basis van gezondheid of gedrag (m.n. voeropname) een duidelijke verslechtering wordt waargenomen, worden de dieren uit de proef verwijderd. Er wordt gedurende alle dagen van het experiment een welzijnsdagboek bijgehouden.

5.c. Voeding:

Tijdens de opfokperiode wordt een commercieel gangbaar volledig voeder verstrekt.

Tijdens de adaptatie en proefperiode wordt een melkpoeder verstrekt waarin het aminozuur lysine beperkend is voor eiwitaaanzet. Lysine wordt in de verschillende behandelingen tijdens de proefperiode toenemend of afnemend supplementeerd (zie ook proefbehandelingen). De dieren worden tweemaal daags gevoerd met een tussenvoertijd van 12 uur. Er wordt geen ruwvoer verstrekt. Het voeropnamegedrag wordt per dier nauwkeurig geregistreerd (voerresten, gedrag rondom voerbeurt).

6.a. Proefschema / proefbehandelingen:

Een melkpoeder met wei en tarwegluten als eiwitbronnen wordt tweemaal per dag om 6.00 en 18.00 uur aan de kalveren verstrekt. In dit melkpoeder is het aminozuur lysine het beperkende aminozuur voor eiwitaaanzet.

Voor 3 kalveren is de behandeling als volgt:

1. 3 weken op een adequaat lysineniveau
2. 7 dagen op een deficient lysineniveau (adaptatieperiode aan lysinedeficientie).
3. 2 weken huisvesting in klimaatrespiratiecel waar lysinegift stapsgewijs (elke 2 dagen) toeneemt van een deficient niveau tot een niveau waarin lysine boven de waarschijnlijke behoefte wordt verstrekt.

4. 3 weken op een adequaat lysineniveau
5. 7 dagen op een hoog lysineniveau (adaptatieperiode aan hoog lysineniveau).
6. 2 weken huisvesting in klimaat en respiratiecellen waar lysine stapsgewijs (elke 2 dagen) in de tijd gesupplementeerd wordt van een hoog niveau tot een deficient lysineniveau.

Bij 3 andere kalveren is de volgorde 4,5,6,1,2,3. Verder doorlopen 6 reservekalveren hetzelfde schema maar worden niet in respiratiecellen gehuisvest.

De proefkalveren krijgen een catheter in de halsader gedurende de periode in de respiratiecellen. Om de 2 dagen worden er 6 bloedmonsters genomen (1x voor de voerbeurt, 5x erna in 60-min intervallen, 8 ml per bloedmonster). Deze bloedmonsters maken een goede meting van de aminozuuroxidatie mogelijk, waardoor minder dieren nodig zijn. Aangezien de monsters van buiten de respiratiecellen worden genomen, wordt het gedrag van de dieren niet beïnvloed.

6.b. Mate van ongerief:

Proefkalveren	C. Matig
Reservekalveren	A. Gering

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

Ongerief proefkalveren: Geen ruwvoerstrekking, periodiek lysine deficiënte voeding en individuele huisvesting met behoud van visueel en auditief contact. Bevestiging tuigje voor gescheiden verzamelen van mest en urine. Inbrengen van één catheter in de halsader.

Ongerief reservekalveren: Geen ruwvoerstrekking, periodiek lysine deficiënte voeding en individuele huisvesting met behoud van visueel, auditief en lichamelijk contact.

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

Anesthesie:

Proefkalveren	A. Niet toegepast (geen aanleiding).
Reservekalveren	A. Niet toegepast (geen aanleiding).

Pijnbestrijding:

Proefkalveren	A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
Reservekalveren	A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.

Proefkalveren: Visueel en auditief contact blijft mogelijk in de klimaat en respiratiecellen en de balanskooien zijn verlengd en verbreed voor een vergrote leefruimte.

Reservekalveren: Visueel, auditief en lichamelijk contact tussen de dieren is mogelijk en de dieren krijgen een grote leefruimte.

8. Toestand van dieren na einde van de proef:

Proefkalveren	Het dier is gedood na het einde van de proef.
Reservekalveren	Het dier is gedood na het einde van de proef.

Toelichting:

Na het einde van de proef worden de dieren in een slachthuis gedood.

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

Er is gekozen voor herhaalde waarnemingen aan de proefdieren (toe- en afnemende lysineopname per dier). Hierdoor kan per dier de lysinebehoefte worden geschat en zijn minder proefdieren nodig.

De alternatieve methoden voor het schatten van aminozuurbehoefte zijn gebaseerd op het meten van stikstofbalans bij oplopende aminozuuropname of het gebruik van lebmaag-gefistuleerde herkauwers. Het meten van de stikstofbalans vergt in de regel tussen de 40 en 50 kalveren per experiment omdat de

behoefte niet aan een individueel dier kan worden vastgesteld. Het gebruik van gefistuleerde dieren vereist invasieve ingrepen bij de proefdieren. De in dit onderzoek voorgestelde 13C-merker techniek minder invasief en behoeft weinig dieren.

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

[REDACTED]

Proefdiervverzorgers van proefaccomodatie [REDACTED]

Tabel registratiecode opties voor aanvraag 2005027.e (K14):

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
					37	1	1	01					
Proefkalveren	1	45	1	6					01	1	1	3	2
Reservekalveren	1	45	1	12					01	1	1	1	2

Aanmeldingsformulier voor proeven met gewervelde dieren.

Aanvrager: [REDACTED]

Afdeling: [REDACTED]

Titel dierproef: Schatting van de lysinebehoefte van vleeskalveren met behulp van een [¹³C] isotopen merker techniek.

Aanmeldcode / Protocol: 2005027.f

Stadia van de proef:

29-08-2006	Aangemeld	[REDACTED]
29-08-2006	Goedgekeurd	Secretaris van de DEC
31-08-2006	Wijzigen	[REDACTED]
31-08-2006	Gekopieerd	[REDACTED]
31-08-2006	Gekopieerd	[REDACTED]

Is deze proef wetenschappelijk getoetst en goedgekeurd? Ja

Toelichting: project is goedgekeurd door de onderzoekscommissie van de leerstoelgroep [REDACTED] en maakt deel uit van de verlengingsaanvraag van het [REDACTED] project WOB.5505 "Improving nutrient utilization by synchronization using the pruruminant calf as a model". Dit onderzoek is door [REDACTED] goedgekeurd en in februari 2002 ter beoordeling aan de DEC aangeboden. De verlengingsaanvraag is in april 2005 gehonoreerd door het bestuur van [REDACTED].

Deze DEC-aanvraag is (in gewijzigde vorm) in mei 2005 goedgekeurd, maar kon vanwege bezetting van de onderzoeksfaciliteiten toen niet plaatsvinden.

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

. Wetenschappelijke vraag m.b.t.wetensch. vraag

Doelstelling van het onderzoek is vaststelling van de lysinebehoefte en de marginale eiwitbenutting bij vleeskalveren.

Er is in het verleden vaker onderzoek gedaan naar de inefficiëntie van eiwitaanzet bij kalveren (slechts 30-40% van het eiwit wordt benut). Dat onderzoek liet opmerkelijk genoeg zien dat de eiwitbenutting in vleeskalveren nauwelijks werd beïnvloed door supplementatie van een beperkend aminozuur. Dit is tegenstrijdig met andere diersoorten in een vergelijkbare situatie. Waarschijnlijk is de methodiek (een groot aandeel synthetische aminozuren in de voeding in combinatie met balansproeven) en de grote variatie tussen dieren een oorzaak van het niet vinden van een optimale aminozuurgift. Een nieuwe techniek maakt het mogelijk om de aminozuurbehoefte 'binnen een dier' te meten (13C-merker techniek).

Door een niet-beperkend 13C-aminozuur via de voeding te verstrekken en vervolgens de 13CO₂ productie te meten, kan de benutting van dit niet-beperkende aminozuur worden gemeten. Het aminozuur dat wél beperkend is wordt stapsgewijs in grotere hoeveelheden toegevoegd. Met een toenemende toevoeging van het beperkende aminozuur zal er minder van het niet-beperkende 13C-aminozuur worden verbrand omdat dit wordt aangezet in lichaamseiwit. Uiteindelijk wordt een plateau bereikt waarop het eerst beperkende aminozuur niet meer beperkend is voor eiwitaanzet. Dit is de aminozuurbehoefte van

het kalf.

Voordelen van deze techniek zijn: minder dieren nodig, meting binnen dier en een snelle methode.

We verwachten dat een lineair-plateau relatie wordt verkregen. Indien dit niet het geval is, betekent het dat het eiwitmetabolisme in kalveren werkelijk afwijkend is van bijv. rat, varken en mens. Bovendien wordt het kalf gebruikt als modeldier voor het post-absorptieve aminozuurmetabolisme in herkauwers (waarin dergelijk onderzoek wordt belemmerd doordat de aminozuursamenstelling in de pens verandert) en kunnen resultaten ook relevant zijn voor de eiwitstofwisseling in herkauwende runderen.

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

In de praktische kalverhouderij wordt in toenemende mate gebruik gemaakt van plantaardige eiwitbronnen. Deze eiwitbronnen hebben vaak een sub-optimaal aminozuurpatroon voor de aanzet van lichaamseiwit en worden daarom aangevuld met synthetische (vrije) aminozuren. Indien aminozuren niet worden gebruikt voor eiwitaanzet (bij runderen is dit ongeveer 60% tot 70%) verlaat de stikstof via urine het lichaam. Een beter inzicht in de aminozuurbehoefte van kalveren kan leiden tot een betere supplementatie van synthetische aminozuren aan plantaardige eiwitbronnen waardoor de eiwitbenutting wordt verbeterd en de stikstofuitscheiding via urine wordt verminderd. Het concept kan tevens worden gebruikt voor de post-absorptieve aminozuurbehoefte in groeiende herkauwers.

1.c. Lekensamenvatting:

2. Gepland vanaf: 30-08-2006 tot 18-12-2006

3. Specificatie diergroepen:

Proefkalveren 6	runderen	kalveren die in de klimaat en respiratiecellen gehuisvest worden
Reservekalveren 12	runderen	kalveren die niet in de klimaat en respiratiecellen gehuisvest worden

4.a. Nadere aanduiding gebruikte dieren:

In de proef worden zware stierkalveren (>150 kg) van het ras Holstein-Friesian gebruikt. Achttien kalveren worden aangevoerd op een leeftijd van twee weken en worden vervolgens gedurende 3 maanden op de proefaccommodatie gehouden tot een gewicht van 150 kg.

Zes kalveren worden geselecteerd op basis van gezondheid, gewicht en voeropname om te worden in de proef. De overige twaalf kalveren blijven als reservedieren beschikbaar voor de proef.

Door het nemen van bloedmonsters (om de 2 dagen, 1 monster voor en 5 monsters na een voerbeurt in 60-min intervallen) is het aantal proefdieren teruggebracht van 12 naar 6.

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

Er is gekozen voor melkgevoerde kalveren omdat deze een erg lage efficiëntie hebben waarmee voedingseiwit wordt aangezet (<40%). Verder zijn deze kalveren vanwege het ontbreken van de productie van microbiële eiwit in de pens geschikt voor de hier voorgestelde niet invasieve onderzoeksmethode in tegenstelling tot herkauwende dieren.

4.c. Toelichting voor het aantal gebruikte dieren:

Zes dieren zijn noodzakelijk vanwege de grote verschillen in eiwitbenutting tussen dieren (35-45% bij dezelfde behandeling). Een respons wordt binnen dieren verwacht. De spreiding van de optimale lysinegift tussen dieren is echter onduidelijk. Uit ervaring in vorige proeven is gebleken dat uitval en met name het drinkgedrag sterk kan verschillen tussen kalveren en voor het slagen van de gekozen proefopzet is het belangrijk dat goed drinkende kalveren geselecteerd kunnen worden.

Het aantal proefdieren is teruggebracht van 12 naar 6 door meting van de precursor-pool van het indirecte aminozuur (bloedmonstername).

4.d. Herkomst:

Proefkalveren A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland
Reservekalveren A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland

Toelichting:

De proefdieren worden als jonge kalveren (ong. 45 kg) aangevoerd van het proefbedrijf van [REDACTED]. Dieren worden gedurende 3 maanden opgefokt op proefaccommodatie [REDACTED].

5.a. Accommodatie: [REDACTED]

5.b. Huisvesting & Verzorging:

Opfokperiode (3 maanden):

Tijdens deze perioden worden kalveren dagelijks tweemaal gevoerd volgens een gangbaar, commercieel voerschema. Het voeropnamedrag per kalf wordt nauwkeurig geregistreerd en kalveren worden wekelijks gewogen. Kalveren worden individueel gehuisvest in grote hokken waarin ze kunnen rondlopen.

Adaptatieperiode:

Tijdens de adaptatie periode wordt geleidelijk van het commercieel voer omgeschakeld naar het proefvoer. Het voeropnamedrag per kalf wordt nauwkeurig geregistreerd en kalveren worden wekelijks gewogen. Gedurende de eerste 3 weken wordt het proefvoer aangevuld met een (verwachte) adequate hoeveelheid lysine. Tijdens de vierde week vindt adaptatie aan het experimentele lysineniveau plaats (zie behandelingen). Kalveren worden individueel gehuisvest in grote hokken waarin ze kunnen rondlopen. Vier dagen voor de start van de proef worden kalveren op verlengde balanskooien gehuisvest.

Proefperiode:

Er worden herhaalde waarnemingen aan de proefkalveren verricht. Zes proefkalveren worden 2 x 2 weken in een respiratiecel op een verlengde balanskooi gehuisvest. Tussen de proefperioden zit een periode van 4 weken (zie Adaptatieperiode).

Proefkalveren krijgen één catheter in de halsader tijdens de proefperiode. Er worden om de 2 dagen 6 bloedmonsters genomen (1x voor de voerbeurt, 5x na de voerbeurt in 60-min intervallen). Het volume per bloedmonster is 8 ml.

Gedurende de voorperiode, adaptatie en proefperiode wordt de gezondheid van de kalveren minimaal tweemaal daags gecontroleerd. Indien op basis van gezondheid of gedrag (m.n. voeropname) een duidelijke verslechtering wordt waargenomen, worden de dieren uit de proef verwijderd. Er wordt gedurende alle dagen van het experiment een welzijnsdagboek bijgehouden.

5.c. Voeding:

Tijdens de opfokperiode wordt een commercieel gangbaar volledig voeder verstrekt.

Tijdens de adaptatie en proefperiode wordt een melkpoeder verstrekt waarin het aminozuur lysine beperkend is voor eiwitaanzet. Lysine wordt in de verschillende behandelingen tijdens de proefperiode toenemend of afnemend supplementeerd (zie ook proefbehandelingen). De dieren worden tweemaal daags gevoerd met een tussenvoertijd van 12 uur. Er wordt geen ruwvoer verstrekt. Het voeropnamedrag wordt per dier nauwkeurig geregistreerd (voerresten, gedrag rondom voerbeurt).

6.a. Proefschema / proefbehandelingen:

Een melkpoeder met wei en tarwegluten als eiwitbronnen wordt tweemaal per dag om 6.00 en 18.00 uur aan de kalveren verstrekt. In dit melkpoeder is het aminozuur lysine het beperkende aminozuur voor eiwitaanzet.

Voor 3 kalveren is de behandeling als volgt:

1. 3 weken op een adequaat lysineniveau
2. 7 dagen op een deficient lysineniveau (adaptatieperiode aan lysinedeficientie).

3. 2 weken huisvesting in klimaatrespiratiecel waar lysinegift stapsgewijs (elke 2 dagen) toeneemt van een deficient niveau tot een niveau waarin lysine boven de waarschijnlijke behoefte wordt verstrekt.
4. 3 weken op een adequaat lysineniveau
5. 7 dagen op een hoog lysineniveau (adaptatieperiode aan hoog lysineniveau).
6. 2 weken huisvesting in klimaat en respiratiecellen waar lysine stapsgewijs (elke 2 dagen) in de tijd gesupplementeerd wordt van een hoog niveau tot een deficient lysineniveau.

Bij 3 andere kalveren is de volgorde 4,5,6,1,2,3. Verder doorlopen 6 reservekalveren hetzelfde schema maar worden niet in respiratiecellen gehuisvest.

De proefkalveren krijgen een catheter in de halsader gedurende de periode in de respiratiecellen. Om de 2 dagen worden er 6 bloedmonsters genomen (1x voor de voerbeurt, 5x erna in 60-min intervallen, 8 ml per bloedmonster). Deze bloedmonsters maken een goede meting van de aminozuuroxidatie mogelijk, waardoor minder dieren nodig zijn. Aangezien de monsters van buiten de respiratiecellen worden genomen, wordt het gedrag van de dieren niet beïnvloed.

6.b. Mate van ongerief:

Proefkalveren	C. Matig
Reservekalveren	A. Gering

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

Ongerief proefkalveren: Geen ruwvoer verstrekking, periodiek lysine deficiënte voeding en individuele huisvesting met behoud van visueel en auditief contact. Bevestiging tuigje voor gescheiden verzamelen van mest en urine. Inbrengen van één catheter in de halsader.

Ongerief reservekalveren: Geen ruwvoer verstrekking, periodiek lysine deficiënte voeding en individuele huisvesting met behoud van visueel, auditief en lichamelijk contact.

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

Anesthesie:

Proefkalveren	A. Niet toegepast (geen aanleiding).
Reservekalveren	A. Niet toegepast (geen aanleiding).

Pijnbestrijding:

Proefkalveren	A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
Reservekalveren	A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.

Proefkalveren: Visueel en auditief contact blijft mogelijk in de klimaat en respiratiecellen en de balanskooien zijn verlengd en verbreed voor een vergrote leefruimte.

Er wordt lidocaïne spray gebruikt en deze wordt 10 minuten voor het implanteren van de catheter aangebracht op de betreffende operatieplek. De catheters worden met een eenvoudige, snelle manier ingebracht (Seldinger-techniek).

Reservekalveren: Visueel, auditief en lichamelijk contact tussen de dieren is mogelijk en de dieren krijgen een grote leefruimte.

8. Toestand van dieren na einde van de proef:

Proefkalveren	Het dier is gedood na het einde van de proef.
Reservekalveren	Het dier is gedood na het einde van de proef.

Toelichting:

Na het einde van de proef worden de dieren in een slachthuis gedood.

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

Er is gekozen voor herhaalde waarnemingen aan de proefdieren (toe- en afnemende lysineopname per dier). Hierdoor kan per dier de lysinebehoefte worden geschat en zijn minder proefdieren nodig.

De alternatieve methoden voor het schatten van aminozuurbehoefte zijn gebaseerd op het meten van stikstofbalans bij oplopende aminozuuropname of het gebruik van lebmaag-gefistuleerde herkauwers. Het meten van de stikstofbalans vergt in de regel tussen de 40 en 50 kalveren per experiment omdat de behoefte niet aan een individueel dier kan worden vastgesteld. Het gebruik van gefistuleerde dieren vereist invasieve ingrepen bij de proefdieren. De in dit onderzoek voorgestelde ¹³C-merker techniek minder invasief en heeft weinig dieren.

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



Proefdierversorgers van proefaccomodatatie 

Tabel registratiecode opties voor aanvraag 2005027.f (K14):

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
					37	1	1	01					
Proefkalveren	1	45	1	6					01	1	1	3	2
Reservekalveren	1	45	1	12					01	1	1	1	2

Aanmeldingsformulier voor proeven met gewervelde dieren.

[Redacted]

Aanvrager:

Afdeling:

[Redacted]

Titel dierproef: Schatting van de lysinebehoefte van vleeskalveren met behulp van een [¹³C] isotopen merker techniek.

Aanmeldcode / Protocol: 2005027.g

Stadia van de proef:

31-08-2006	Aangemeld
31-08-2006	Goedgekeurd
13-12-2006	Wijzigen
13-12-2006	Gekopieerd

[Redacted]

Is deze proef wetenschappelijk getoetst en goedgekeurd? Ja

Toelichting: project is goedgekeurd door de onderzoekscommissie van de leerstoelgroep [Redacted] en maakt deel uit van de verlengingsaanvraag van het [Redacted] project WOB.5505 "Improving nutrient utilization by synchronization using the preruminant calf as a model". Dit onderzoek is [Redacted] goedgekeurd en in februari 2002 ter beoordeling aan de DEC aangeboden. De verlengingsaanvraag is in april 2005 gehonoreerd door het bestuur van [Redacted].

Deze DEC-aanvraag is (in gewijzigde vorm) in mei 2005 goedgekeurd, maar kon vanwege bezetting van de onderzoeksfaciliteiten toen niet plaatsvinden.

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

. Wetenschappelijke vraag m.b.t.wetensch. vraag

Doelstelling van het onderzoek is vaststelling van de lysinebehoefte en de marginale eiwitbenutting bij vleeskalveren.

Er is in het verleden vaker onderzoek gedaan naar de inefficiëntie van eiwitaanzet bij kalveren (slechts 30-40% van het eiwit wordt benut). Dat onderzoek liet opmerkelijk genoeg zien dat de eiwitbenutting in vleeskalveren nauwelijks werd beïnvloed door supplementatie van een beperkend aminozuur. Dit is tegenstrijdig met andere diersoorten in een vergelijkbare situatie. Waarschijnlijk is de methodiek (een groot aandeel synthetische aminozuren in de voeding in combinatie met balansproeven) en de grote variatie tussen dieren een oorzaak van het niet vinden van een optimale aminozuurgift. Een nieuwe techniek maakt het mogelijk om de aminozuurbehoefte 'binnen een dier' te meten (¹³C-merker techniek).

Door een niet-beperkend ¹³C-aminozuur via de voeding te verstrekken en vervolgens de ¹³CO₂ productie te meten, kan de benutting van dit niet-beperkende aminozuur worden gemeten. Het aminozuur dat wél beperkend is wordt stapsgewijs in grotere hoeveelheden toegevoegd. Met een toenemende toevoeging van het beperkende aminozuur zal er minder van het niet-beperkende ¹³C-aminozuur worden verbrand omdat dit wordt aangezet in lichaamseiwit. Uiteindelijk wordt een plateau bereikt waarop het eerst beperkende aminozuur niet meer beperkend is voor eiwitaanzet. Dit is de aminozuurbehoefte van het kalf.

Voordelen van deze techniek zijn: minder dieren nodig, meting binnen dier en een snelle methode.

We verwachten dat een lineair-plateau relatie wordt verkregen. Indien dit niet het geval is, betekent het dat het eiwitmetabolisme in kalveren werkelijk afwijkend is van bijv. rat, varken en mens. Bovendien wordt het kalf gebruikt als modeldier voor het post-absorptieve aminozuurmetabolisme in herkauwers (waarin dergelijk onderzoek wordt belemmerd doordat de aminozuursamenstelling in de pens verandert) en kunnen resultaten ook relevant zijn voor de eiwitstofwisseling in herkauwende runderen.

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

In de praktische kalverhouderij wordt in toenemende mate gebruik gemaakt van plantaardige eiwitbronnen. Deze eiwitbronnen hebben vaak een sub-optimaal aminozuurpatroon voor de aanzet van lichaamseiwit en worden daarom aangevuld met synthetische (vrije) aminozuren. Indien aminozuren niet worden gebruikt voor eiwitaanzet (bij runderen is dit ongeveer 60% tot 70%) verlaat de stikstof via urine het lichaam. Een beter inzicht in de aminozuurbehoefte van kalveren kan leiden tot een betere supplementatie van synthetische aminozuren aan plantaardige eiwitbronnen waardoor de eiwitbenutting wordt verbeterd en de stikstofuitscheiding via urine wordt verminderd. Het concept kan tevens worden gebruikt voor de post-absorptieve aminozuurbehoefte in groeiende herkauwers.

1.c. Lekensamenvatting:

2. Gepland vanaf: 01-09-2006 tot 18-12-2006

3. Specificatie diergroepen:

Proefkalveren 6	runderen	kalveren die in de klimaat en respiratiecellen gehuisvest worden
Reservekalveren 12	runderen	kalveren die niet in de klimaat en respiratiecellen gehuisvest worden

4.a. Nadere aanduiding gebruikte dieren:

In de proef worden zware stierkalveren (>150 kg) van het ras Holstein-Friesian gebruikt. Achttien kalveren worden aangevoerd op een leeftijd van twee weken en worden vervolgens gedurende 3 maanden op de proefaccommodatie gehouden tot een gewicht van 150 kg.

Zes kalveren worden geselecteerd op basis van gezondheid, gewicht en voeropname om te worden in de proef. De overige twaalf kalveren blijven als reservedieren beschikbaar voor de proef.

Door het nemen van bloedmonsters (om de 2 dagen, 1 monster voor en 5 monsters na een voerbeurt in 60-min intervallen) is het aantal proefdieren teruggebracht van 12 naar 6.

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

Er is gekozen voor melkgevoerde kalveren omdat deze een erg lage efficiëntie hebben waarmee voedingseiwit wordt aangezet (<40%). Verder zijn deze kalveren vanwege het ontbreken van de productie van microbieel eiwit in de pens geschikt voor de hier voorgestelde niet invasieve onderzoeksmethode in tegenstelling tot herkauwende dieren.

4.c. Toelichting voor het aantal gebruikte dieren:

Zes dieren zijn noodzakelijk vanwege de grote verschillen in eiwitbenutting tussen dieren (35-45% bij dezelfde behandeling). Een respons wordt binnen dieren verwacht. De spreiding van de optimale lysinegift tussen dieren is echter onduidelijk. Uit ervaring in vorige proeven is gebleken dat uitval en met name het drinkgedrag sterk kan verschillen tussen kalveren en voor het slagen van de gekozen proefopzet is het belangrijk dat goed drinkende kalveren geselecteerd kunnen worden.

Het aantal proefdieren is teruggebracht van 12 naar 6 door meting van de precursor-pool van het indirecte aminozuur (bloedmonstername).

4.d. Herkomst:

Proefkalveren A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland

Reservekalveren A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland
Toelichting:

De proefdieren worden als jonge kalveren (ong. 45 kg) aangevoerd van het proefbedrijf van [REDACTED]. Dieren worden gedurende 3 maanden opgefokt op proefaccommodatie [REDACTED].

5.a. Accommodatie: [REDACTED]

5.b. Huisvesting & Verzorging:

Opfokperiode (3 maanden):

Tijdens deze perioden worden kalveren dagelijks tweemaal gevoerd volgens een gangbaar, commercieel voerschema. Het voeropnamedrag per kalf wordt nauwkeurig geregistreerd en kalveren worden wekelijks gewogen. Kalveren worden individueel gehuisvest in grote hokken waarin ze kunnen rondlopen.

Adaptatieperiode:

Tijdens de adaptatie periode wordt geleidelijk van het commercieel voer omgeschakeld naar het proefvoer. Het voeropnamedrag per kalf wordt nauwkeurig geregistreerd en kalveren worden wekelijks gewogen. Gedurende de eerste 3 weken wordt het proefvoer aangevuld met een (verwachte) adequate hoeveelheid lysine. Tijdens de vierde week vindt adaptatie aan het experimentele lysineniveau plaats (zie behandelingen). Kalveren worden individueel gehuisvest in grote hokken waarin ze kunnen rondlopen. Vier dagen voor de start van de proef worden kalveren op verlengde balanskooien gehuisvest.

Proefperiode:

Er worden herhaalde waarnemingen aan de proefkalveren verricht. Zes proefkalveren worden 2 x 2 weken in een respiratiecel op een verlengde balanskooi gehuisvest. Tussen de proefperiodes zit een periode van 4 weken (zie Adaptatieperiode).

Proefkalveren krijgen één catheter in de halsader tijdens de proefperiode. Er worden om de 2 dagen 6 bloedmonsters genomen (1x voor de voerbeurt, 5x na de voerbeurt in 60-min intervallen). Het volume per bloedmonster is 8 ml.

Gedurende de voorperiode, adaptatie en proefperiode wordt de gezondheid van de kalveren minimaal tweemaal daags gecontroleerd. Indien op basis van gezondheid of gedrag (m.n. voeropname) een duidelijke verslechtering wordt waargenomen, worden de dieren uit de proef verwijderd. Er wordt gedurende alle dagen van het experiment een welzijnsdagboek bijgehouden.

5.c. Voeding:

Tijdens de opfokperiode wordt een commercieel gangbaar volledig voeder verstrekt.

Tijdens de adaptatie en proefperiode wordt een melkpoeder verstrekt waarin het aminozuur lysine beperkend is voor eiwitaanzet. Lysine wordt in de verschillende behandelingen tijdens de proefperiode toenemend of afnemend supplementeerd (zie ook proefbehandelingen). De dieren worden tweemaal daags gevoerd met een tussenvoertijd van 12 uur. Er wordt geen ruwvoer verstrekt. Het voeropnamedrag wordt per dier nauwkeurig geregistreerd (voerresten, gedrag rondom voerbeurt).

6.a. Proefschema / proefbehandelingen:

Een melkpoeder met wei en tarwegluten als eiwitbronnen wordt tweemaal per dag om 6.00 en 18.00 uur aan de kalveren verstrekt. In dit melkpoeder is het aminozuur lysine het beperkende aminozuur voor eiwitaanzet.

Voor 3 kalveren is de behandeling als volgt:

1. 3 weken op een adequaat lysineniveau
2. 7 dagen op een deficient lysineniveau (adaptatieperiode aan lysinedeficientie).
3. 2 weken huisvesting in klimaatrespiratiecel waar lysinegift stapsgewijs (elke 2 dagen) toeneemt van een

deficient niveau tot een niveau waarin lysine boven de waarschijnlijke behoefte wordt verstrekt.

4. 3 weken op een adequaat lysineniveau

5. 7 dagen op een hoog lysineniveau (adaptatieperiode aan hoog lysineniveau).

6. 2 weken huisvesting in klimaat en respiratiecellen waar lysine stapsgewijs (elke 2 dagen) in de tijd gesupplementeerd wordt van een hoog niveau tot een deficient lysineniveau.

Bij 3 andere kalveren is de volgorde 4,5,6,1,2,3. Verder doorlopen 6 reservekalveren hetzelfde schema maar worden niet in respiratiecellen gehuisvest.

De proefkalveren krijgen een catheter in de halsader gedurende de periode in de respiratiecellen. Om de 2 dagen worden er 6 bloedmonsters genomen (1x voor de voerbeurt, 5x erna in 60-min intervallen, 8 ml per bloedmonster). Deze bloedmonsters maken een goede meting van de aminozuuroxidatie mogelijk, waardoor minder dieren nodig zijn. Aangezien de monsters van buiten de respiratiecellen worden genomen, wordt het gedrag van de dieren niet beïnvloed.

6.b. Mate van ongerief:

Proefkalveren C. Matig

Reservekalveren A. Gering

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

Ongerief proefkalveren: Geen ruwvoerverstrekking, periodiek lysine deficiënte voeding en individuele huisvesting met behoud van visueel en auditief contact. Bevestiging tuigje voor gescheiden verzamelen van mest en urine. Inbrengen van één catheter gedurende 14 dagen in de halsader. Catherisatie inclusief scheren, lidocaine inwerken en desinfecteren duurt plusminus 20 minuten.

Ongerief reservekalveren: Geen ruwvoerverstrekking, periodiek lysine deficiënte voeding en individuele huisvesting met behoud van visueel, auditief en lichamelijk contact.

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

Anesthesie:

Proefkalveren A. Niet toegepast (geen aanleiding).

Reservekalveren A. Niet toegepast (geen aanleiding).

Pijnbestrijding:

Proefkalveren D. Wordt wel toegepast.

Reservekalveren A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.

Proefkalveren: Visueel en auditief contact blijft mogelijk in de klimaat en respiratiecellen en de balanskooien zijn verlengd en verbreed voor een vergrote leefruimte.

Er wordt lidocainespray gebruikt en deze wordt 10 minuten voor het implanteren van de catheter aangebracht op de betreffende operatieplek. De catheters worden met een eenvoudige, snelle manier ingebracht (Seldinger-techniek).

Reservekalveren: Visueel, auditief en lichamelijk contact tussen de dieren is mogelijk en de dieren krijgen een grote leefruimte.

8. Toestand van dieren na einde van de proef:

Proefkalveren Het dier is gedood na het einde van de proef.

Reservekalveren Het dier is gedood na het einde van de proef.

Toelichting:

Na het einde van de proef worden de dieren in een slachthuis gedood.

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

Er is gekozen voor herhaalde waarnemingen aan de proefdieren (toe- en afnemende lysineopname per dier). Hierdoor kan per dier de lysinebehoefte worden geschat en zijn minder proefdieren nodig.

De alternatieve methoden voor het schatten van aminozuurbehoefte zijn gebaseerd op het meten van stikstofbalans bij oplopende aminozuuropname of het gebruik van lebmaag-gefistuleerde herkauwers. Het meten van de stikstofbalans vergt in de regel tussen de 40 en 50 kalveren per experiment omdat de behoefte niet aan een individueel dier kan worden vastgesteld. Het gebruik van gefistuleerde dieren vereist invasieve ingrepen bij de proefdieren. De in dit onderzoek voorgestelde ¹³C-merker techniek minder invasief en behoeft weinig dieren.

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



Proefdierversorgers van proefaccomodatie 

Tabel registratiecode opties voor aanvraag 2005027.g (K14):

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
					37	1	1	01					
Proefkalveren	1	45	1	6					01	1	4	3	2
Reservekalveren	1	45	1	12					01	1	1	1	2

Aanmeldingsformulier voor proeven met gewervelde dieren.

Aanvrager: [REDACTED]

Afdeling: [REDACTED]

Titel dierproef: Schatting van de lysinebehoefte van vleeskalveren met behulp van een [¹³C] isotopen merker techniek.

Aanmeldcode / Protocol: 2005027.h

Stadia van de proef:

13-12-2006

Aangemeld

13-12-2006

Goedgekeurd [REDACTED]

Is deze proef wetenschappelijk getoetst en goedgekeurd? Ja

Toelichting: project is goedgekeurd door de onderzoekscommissie van de leerstoelgroep [REDACTED] en maakt deel uit van de verlengingsaanvraag van het [REDACTED] project WOB.5505 "Improving nutrient utilization by synchronization using the pruruminant calf as a model". Dit onderzoek is door [REDACTED] goedgekeurd en in februari 2002 ter beoordeling aan de DEC aangeboden. De verlengingsaanvraag is in april 2005 gehonoreerd door het bestuur van [REDACTED].

Deze DEC-aanvraag is (in gewijzigde vorm) in mei 2005 goedgekeurd, maar kon vanwege bezetting van de onderzoeksfaciliteiten toen niet plaatsvinden.

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

. Wetenschappelijke vraag m.b.t.wetensch. vraag

Doelstelling van het onderzoek is vaststelling van de lysinebehoefte en de marginale eiwitbenutting bij vleeskalveren.

Er is in het verleden vaker onderzoek gedaan naar de inefficiëntie van eiwitaanzet bij kalveren (slechts 30-40% van het eiwit wordt benut). Dat onderzoek liet opmerkelijk genoeg zien dat de eiwitbenutting in vleeskalveren nauwelijks werd beïnvloed door supplementatie van een beperkend aminozuur. Dit is tegenstrijdig met andere diersoorten in een vergelijkbare situatie. Waarschijnlijk is de methodiek (een groot aandeel synthetische aminozuren in de voeding in combinatie met balansproeven) en de grote variatie tussen dieren een oorzaak van het niet vinden van een optimale aminozuurgift. Een nieuwe techniek maakt het mogelijk om de aminozuurbehoefte 'binnen een dier' te meten (13C-merker techniek).

Door een niet-beperkend 13C-aminozuur via de voeding te verstrekken en vervolgens de 13CO₂ productie te meten, kan de benutting van dit niet-beperkende aminozuur worden gemeten. Het aminozuur dat wél beperkend is wordt stapsgewijs in grotere hoeveelheden toegevoegd. Met een toenemende toevoeging van het beperkende aminozuur zal er minder van het niet-beperkende 13C-aminozuur worden verbrand omdat dit wordt aangezet in lichaamseiwit. Uiteindelijk wordt een plateau bereikt waarop het eerst beperkende aminozuur niet meer beperkend is voor eiwitaanzet. Dit is de aminozuurbehoefte van het kalf.

Voordelen van deze techniek zijn: minder dieren nodig, meting binnen dier en een snelle methode.

We verwachten dat een lineair-plateau relatie wordt verkregen. Indien dit niet het geval is, betekent het dat het eiwitmetabolisme in kalveren werkelijk afwijkend is van bijv. rat, varken en mens. Bovendien wordt het kalf gebruikt als modeldier voor het post-absorptieve aminozuurmetabolisme in herkauwers (waarin dergelijk onderzoek wordt belemmerd doordat de aminozuursamenstelling in de pens verandert) en kunnen resultaten ook relevant zijn voor de eiwitstofwisseling in herkauwende runderen.

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

In de praktische kalverhouderij wordt in toenemende mate gebruik gemaakt van plantaardige eiwitbronnen. Deze eiwitbronnen hebben vaak een sub-optimaal aminozuurpatroon voor de aanzet van lichaamseiwit en worden daarom aangevuld met synthetische (vrije) aminozuren. Indien aminozuren niet worden gebruikt voor eiwitaanzet (bij runderen is dit ongeveer 60% tot 70%) verlaat de stikstof via urine het lichaam. Een beter inzicht in de aminozuurbehoefte van kalveren kan leiden tot een betere supplementatie van synthetische aminozuren aan plantaardige eiwitbronnen waardoor de eiwitbenutting wordt verbeterd en de stikstofuitscheiding via urine wordt verminderd. Het concept kan tevens worden gebruikt voor de post-absorptieve aminozuurbehoefte in groeiende herkauwers.

1.c. Lekensamenvatting:

2. Gepland vanaf: 14-12-2006 tot 27-12-2006

3. Specificatie diergroepen:

Proefkalveren	6	runderen	kalveren die in de klimaat en respiratiecellen gehuisvest worden
Reservekalveren	12	runderen	kalveren die niet in de klimaat en respiratiecellen gehuisvest worden

4.a. Nadere aanduiding gebruikte dieren:

In de proef worden zware stierkalveren (>150 kg) van het ras Holstein-Friesian gebruikt. Achttien kalveren worden aangevoerd op een leeftijd van twee weken en worden vervolgens gedurende 3 maanden op de proefaccommodatie gehouden tot een gewicht van 150 kg.

Zes kalveren worden geselecteerd op basis van gezondheid, gewicht en voeropname om te worden in de proef. De overige twaalf kalveren blijven als reservedieren beschikbaar voor de proef.

Door het nemen van bloedmonsters (om de 2 dagen, 1 monster voor en 5 monsters na een voerbeurt in 60-min intervallen) is het aantal proefdieren teruggebracht van 12 naar 6.

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

Er is gekozen voor melkgevoerde kalveren omdat deze een erg lage efficiëntie hebben waarmee voedingseiwit wordt aangezet (<40%). Verder zijn deze kalveren vanwege het ontbreken van de productie van microbieel eiwit in de pens geschikt voor de hier voorgestelde niet invasieve onderzoeksmethode in tegenstelling tot herkauwende dieren.

4.c. Toelichting voor het aantal gebruikte dieren:

Zes dieren zijn noodzakelijk vanwege de grote verschillen in eiwitbenutting tussen dieren (35-45% bij dezelfde behandeling). Een respons wordt binnen dieren verwacht. De spreiding van de optimale lysinegift tussen dieren is echter onduidelijk. Uit ervaring in vorige proeven is gebleken dat uitval en met name het drinkgedrag sterk kan verschillen tussen kalveren en voor het slagen van de gekozen proefopzet is het belangrijk dat goed drinkende kalveren geselecteerd kunnen worden.

Het aantal proefdieren is teruggebracht van 12 naar 6 door meting van de precursor-pool van het indirecte aminozuur (bloedmonstername).

4.d. Herkomst:

Proefkalveren	A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland
Reservekalveren	A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland

Toelichting:

De proefdieren worden als jonge kalveren (ong. 45 kg) aangevoerd van het proefbedrijf van [REDACTED]

[REDACTED]. Dieren worden gedurende 3 maanden opgefokt op [REDACTED]

5.a. Accommodatie: [REDACTED]

5.b. Huisvesting & Verzorging:

Opfokperiode (3 maanden):

Tijdens deze perioden worden kalveren dagelijks tweemaal gevoerd volgens een gangbaar, commercieel voerschema. Het voeropnamegedrag per kalf wordt nauwkeurig geregistreerd en kalveren worden wekelijks gewogen. Kalveren worden individueel gehuisvest in grote hokken waarin ze kunnen rondlopen.

Adaptatieperiode:

Tijdens de adaptatie periode wordt geleidelijk van het commercieel voer omgeschakeld naar het proefvoer. Het voeropnamegedrag per kalf wordt nauwkeurig geregistreerd en kalveren worden wekelijks gewogen. Gedurende de eerste 3 weken wordt het proefvoer aangevuld met een (verwachte) adequate hoeveelheid lysine. Tijdens de vierde week vindt adaptatie aan het experimentele lysineniveau plaats (zie behandelingen). Kalveren worden individueel gehuisvest in grote hokken waarin ze kunnen rondlopen. Vier dagen voor de start van de proef worden kalveren op verlengde balanskooien gehuisvest.

Proefperiode:

Er worden herhaalde waarnemingen aan de proefkalveren verricht. Zes proefkalveren worden 2 x 2 weken in een respiratiecel op een verlengde balanskooi gehuisvest. Tussen de proefperioden zit een periode van 4 weken (zie Adaptatieperiode).

Proefkalveren krijgen één catheter in de halsader tijdens de proefperiode. Er worden om de 2 dagen 6 bloedmonsters genomen (1x voor de voerbeurt, 5x na de voerbeurt in 60-min intervallen). Het volume per bloedmonster is 8 ml.

Gedurende de voorperiode, adaptatie en proefperiode wordt de gezondheid van de kalveren minimaal tweemaal daags gecontroleerd. Indien op basis van gezondheid of gedrag (m.n. voeropname) een duidelijke verslechtering wordt waargenomen, worden de dieren uit de proef verwijderd. Er wordt gedurende alle dagen van het experiment een welzijnsdagboek bijgehouden.

5.c. Voeding:

Tijdens de opfokperiode wordt een commercieel gangbaar volledig voeder verstrekt.

Tijdens de adaptatie en proefperiode wordt een melkpoeder verstrekt waarin het aminozuur lysine beperkend is voor eiwitaanzet. Lysine wordt in de verschillende behandelingen tijdens de proefperiode toenemend of afnemend supplementeerd (zie ook proefbehandelingen). De dieren worden tweemaal daags gevoerd met een tussenvoertijd van 12 uur. Er wordt geen ruwvoer verstrekt. Het voeropnamegedrag wordt per dier nauwkeurig geregistreerd (voerresten, gedrag rondom voerbeurt).

6.a. Proefschema / proefbehandelingen:

Een melkpoeder met wei en tarwegluten als eiwitbronnen wordt tweemaal per dag om 6.00 en 18.00 uur aan de kalveren verstrekt. In dit melkpoeder is het aminozuur lysine het beperkende aminozuur voor eiwitaanzet.

Voor 3 kalveren is de behandeling als volgt:

1. 3 weken op een adequaat lysineniveau
2. 7 dagen op een deficient lysineniveau (adaptatieperiode aan lysinedeficientie).
3. 2 weken huisvesting in klimaatrespiratiecel waar lysinegift stapsgewijs (elke 2 dagen) toeneemt van een deficient niveau tot een niveau waarin lysine boven de waarschijnlijke behoefte wordt verstrekt.
4. 3 weken op een adequaat lysineniveau

5. 7 dagen op een hoog lysineniveau (adaptatieperiode aan hoog lysineniveau).
6. 2 weken huisvesting in klimaat en respiratiecellen waar lysine stapsgewijs (elke 2 dagen) in de tijd gesupplementeerd wordt van een hoog niveau tot een deficient lysineniveau.

Bij 3 andere kalveren is de volgorde 4,5,6,1,2,3. Verder doorlopen 6 reservekalveren hetzelfde schema maar worden niet in respiratiecellen gehuisvest.

De proefkalveren krijgen een catheter in de halsader gedurende de periode in de respiratiecellen. Om de 2 dagen worden er 6 bloedmonsters genomen (1x voor de voerbeurt, 5x erna in 60-min intervallen, 8 ml per bloedmonster). Deze bloedmonstersname maakt een goede meting van de aminozuuroxidatie mogelijk, waardoor minder dieren nodig zijn. Aangezien de monsters van buiten de respiratiecellen worden genomen, wordt het gedrag van de dieren niet beïnvloed.

6.b. Mate van ongerief:

Proefkalveren	C. Matig
Reservekalveren	A. Gering

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

Ongerief proefkalveren: Geen ruwvoerverstrekking, periodiek lysine deficiënte voeding en individuele huisvesting met behoud van visueel en auditief contact. Bevestiging tuigje voor gescheiden verzamelen van mest en urine. Inbrengen van één catheter gedurende 14 dagen in de halsader. Catherisatie inclusief scheren, lidocaine inwerken en desinfecteren duurt plusminus 20 minuten.

Ongerief reservekalveren: Geen ruwvoerverstrekking, periodiek lysine deficiënte voeding en individuele huisvesting met behoud van visueel, auditief en lichamelijk contact.

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

Anesthesie:

Proefkalveren	A. Niet toegepast (geen aanleiding).
Reservekalveren	A. Niet toegepast (geen aanleiding).

Pijnbestrijding:

Proefkalveren	D. Wordt wel toegepast.
Reservekalveren	A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.

Proefkalveren: Visueel en auditief contact blijft mogelijk in de klimaat en respiratiecellen en de balanskooien zijn verlengd en verbreed voor een vergrote leefruimte.

Er wordt lidocainespray gebruikt en deze wordt 10 minuten voor het implanteren van de catheter aangebracht op de betreffende operatieplek. De catheters worden met een eenvoudige, snelle manier ingebracht (Seldinger-techniek).

Reservekalveren: Visueel, auditief en lichamelijk contact tussen de dieren is mogelijk en de dieren krijgen een grote leefruimte.

8. Toestand van dieren na einde van de proef:

Proefkalveren	Het dier is gedood na het einde van de proef.
Reservekalveren	Het dier is gedood na het einde van de proef.

Toelichting:

Na het einde van de proef worden de dieren in een slachthuis gedood.

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

Er is gekozen voor herhaalde waarnemingen aan de proefdieren (toe- en afnemende lysineopname per dier). Hierdoor kan per dier de lysinebehoefte worden geschat en zijn minder proefdieren nodig.

De alternatieve methoden voor het schatten van aminozuurbehoefte zijn gebaseerd op het meten van stikstofbalans bij oplopende aminozuuroptname of het gebruik van lebmaag-gefistuleerde herkauwers. Het meten van de stikstofbalans vergt in de regel tussen de 40 en 50 kalveren per experiment omdat de behoefte niet aan een individueel dier kan worden vastgesteld. Het gebruik van gefistuleerde dieren vereist invasieve ingrepen bij de proefdieren. De in dit onderzoek voorgestelde 13C-merker techniek minder invasief en heeft weinig dieren.

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



Proefdierversorgers van proefaccommodatie



Tabel registratiecode opties voor aanvraag 2005027.h (K14):

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
					37	1	1	01					
Proefkalveren	1	45	1	6					01	1	4	3	2
Reservekalveren	1	45	1	12					01	1	1	1	2

Uw aanvraag 2005027.a (Schatting van de lysinebehoefte van vleeskalveren met behulp van een [13C] isotopen merker techniek.), door u aangemeld vanuit DRS heeft van de DEC de status: 'Te wijzigen' gekregen.

De DEC heeft de volgende vragen en opmerkingen:

Gezien de maatschappelijk discussie over de productie van witvlees verzoekt de DEC u beter aan te geven wat het uiteindelijke doel van de proef is en waarom kalveren van meer dan 150 kg worden gebruikt.

De DEC gaat ervan uit, dat de reservedieren niet individueel komen te staan.

Tenslotte verzoekt de DEC u aan te geven, of de dieren na slachting nog voor consumptie worden gebruikt en of dit, gezien de labeling met 13C nog verantwoord is. Indien de dieren niet meer voor consumptie geschikt zijn, verzoekt de DEC u ze na het einde van de proef op de proefaccommodatie te doden. Afhankelijk van uw reactie hierop verzoekt de DEC u in de registratiecodetabel kolom 13 (toestand van het dier na einde proef) aan te passen.

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

Uw aanvraag 2005027.b (Schatting van de lysinebehoefte van vleeskalveren met behulp van een [13C] isotopen merker techniek.), door u aangemeld vanuit DRS heeft van de DEC de status: 'Goedgekeurd' gekregen.

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

Met vriendelijke groet,


Secretaris DEC

Uw aanvraag 2005027.b, door u aangemeld vanuit DRS heeft van de DEC de status: 'Wijzigen' gekregen.

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 'proef', 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 2005027.c, door u aangemeld vanuit DRS heeft van de DEC de status: 'Goedgekeurd' gekregen.

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

Met vriendelijke groet,


Secretaris DEC

Uw aanvraag 2005027.c, door u aangemeld vanuit DRS heeft van de DEC de status: 'Wijzigen' gekregen.

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 'proef', 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 2005027.d, door u aangemeld vanuit DRS heeft van de DEC de status: 'Wijzigen' gekregen.

S.v.p. catheterisatie vermelden bij 6.a. "proefbehandelingen". (Het staat nu wel bij 5.b, "huisvesting en verzorging")

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 'proef', 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 2005027.e, door u aangemeld vanuit DRS heeft van de DEC de status: 'Wijzigen' gekregen.

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 'proef', 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 2005027.f, door u aangemeld vanuit DRS heeft van de DEC de status: 'Goedgekeurd' gekregen.

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

Met vriendelijke groet,


Secretaris DEC

Uw aanvraag 2005027.f, door u aangemeld vanuit DRS heeft van de DEC de status: 'Wijzigen' gekregen.

Pijnbestrijding wordt toegevoegd.

Duur van de ingreep wordt erbij gevoegd.

Definitie "uit de proef" bij humane eindpunten wordt aangescherpt.

Met vriendelijke groet,

■■■■■■■■■■

Uw aanvraag 2005027.g, door u aangemeld vanuit DRS heeft van de DEC de status: 'Goedgekeurd' gekregen.

De kleine wijzigingen t.o.v. het vorige protocol zijn doorgevoerd.

Met vriendelijke groet,

■■■■■■■■■■

Uw aanvraag 2005027.g, door u aangemeld vanuit DRS heeft van de DEC de status: 'Wijzigen' gekregen.

Zoals afgesproken in de mail toestemming om het experiment met 9 dagen te verlengen.

mvg ■■■■

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 'proef', en dan de optie 'wijzigen'. Er wordt dan een kopie van de originele aanvraag gemaakt. Deze kopie kunt u vervolgens wijzigen, en opnieuw aanmelden.

Uw aanvraag 2005027.h, door u aangemeld vanuit DRS heeft van de DEC de status: 'Goedgekeurd' gekregen.

Toestemming om de proef met 9 dagen te verlengen.

Mvg ■■■■