



Relatie tussen bedrijfsgezondheidsstatus, technische resultaten en aminozuurstofwisseling bij vleesvarkens

P. Sakkas, C.M.C. van der Peet-Schwering, W.J.J. Gerrits, E. Kampman-van der Hoek, J.J.G.C. van den Borne, A.J.M. Jansman



LIVESTOCK RESEARCH
WAGENINGEN **UR**

Relatie tussen bedrijfsgezondheidsstatus, technische resultaten en aminozuurstofwisseling bij vleesvarkens

Relationship between farm health status, growth performance and amino acid metabolism in growing pigs

P. Sakkas, C.M.C. van der Peet-Schwering, W.J.J. Gerrits, E. Kampman-van der Hoek, J.J.G.C. van den Borne, A.J.M. Jansman

Wageningen UR Livestock Research
Wageningen, februari 2016

Livestock Research Rapport 943



LIVESTOCK RESEARCH
WAGENINGEN UR

P. Sakkas, C.M.C. van der Peet-Schwering, W.J.J. Gerrits, E. Kampman-van der Hoek, J.J.G.C. van den Borne, A.J.M. Jansman, 2016. *Relatie tussen bedrijfsgezondheidsstatus, technische resultaten en aminozuurstofwisseling bij vleesvarkens; Relationship between farm health status, growth performance and amino acid metabolism in growing pigs*. Wageningen, Wageningen UR (University & Research centre) Livestock Research, Livestock Research Rapport 943.

Samenvatting NL: Er is weinig kennis over het effect van de gezondheidsstatus van vleesvarkens op bedrijfsniveau op de technische resultaten, de vertering van het voer en de aminozuurstofwisseling van vleesvarkens. Daarom zijn deze relaties onderzocht op zes vleesvarkensbedrijven met een verschillende gezondheidsstatus. De resultaten van het onderzoek zijn beschreven in dit rapport.

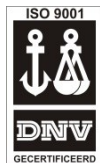
Trefwoorden: bedrijfsgezondheidsstatus, vleesvarkens, technische resultaten, aminozuurstofwisseling

Keywords: farm health status, growing pigs, performance, amino acid metabolism

© 2016 Wageningen UR Livestock Research, Postbus 338, 6700 AH Wageningen, T 0317 48 39 53, E info.livestockresearch@wur.nl, www.wageningenUR.nl/livestockresearch. Livestock Research is onderdeel van Wageningen UR (University & Research centre).

Livestock Research aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden vermenigvuldigd en/of openbaar gemaakt worden door middel van druk, fotokopie, microfilm of op welke wijze dan ook zonder voorafgaande toestemming van de uitgever of auteur.



De certificering volgens ISO 9001 door DNV onderstreept ons kwaliteitsniveau. Op als onze onderzoeksopdrachten zijn de Algemene Voorwaarden van de Animal Sciences Group van toepassing. Deze zijn gedeponeerd bij de Arrondissementsrechtbank Zwolle.

Inhoud

Woord vooraf	5
Samenvatting	7
Summary	9
1 Inleiding	11
2 Materiaal en methode	12
2.1 Selectie van de zes bedrijven	12
2.2 Onderzoek naar technische resultaten, vertering en activatie immuunsysteem	12
2.2.1 Uitvoering	12
2.2.2 Huisvesting en klimaat	13
2.2.3 Voeding en drinkwaterverstrekking	13
2.2.4 Waarnemingen en berekeningen	13
2.3 Onderzoek naar eiwit- en aminozuurstofwisseling	14
2.3.1 Dieren, huisvesting en voeding	14
2.3.2 Waarnemingen en berekeningen	14
2.4 Stikstofbalans studie	15
2.4.1 Dieren en huisvesting	15
2.4.2 Voeding en drinkwaterverstrekking	15
2.4.3 Waarnemingen en berekeningen	16
2.5 Gegevensverwerking en statistische analyse	16
3 Resultaten	18
3.1 Technische resultaten, vertering en immuunparameters	18
3.1.1 Technische resultaten	18
3.1.2 Verteringsonderzoek	18
3.1.3 Immuunparameters van de vleesvarkens	19
3.1.4 Relatie tussen technische resultaten, vertering en immuunparameters	20
3.2 Eiwit- en aminozuurstofwisseling	21
3.2.1 Irreversible loss rate (ILR)	21
3.2.2 Relatie tussen immuunparameters en aminozuurstofwisseling	22
3.2.3 Sectieresultaten	23
3.3 Stikstofbalans	24
3.3.1 Stikstofaanzet	24
3.3.2 Immuunparameters	26
3.3.3 Relatie tussen stikstofbalans- en immuunparameters	27
4 Discussie	29
4.1 Classificatie gezondheidsstatus bedrijven via spinnenwebmethode	29
4.2 Effect van gezondheidsstatus op vertering en immuunsysteem	30
4.3 Effect van gezondheidsstatus op aminozuur metabolisme	30
4.4 Effect van gezondheidsstatus op eiwitaanzet en eiwitbenutting	32
4.5 Conclusies	33
Literatuur	34
Bijlagen	36
Bijlage 1 Selectie van 6 praktijkbedrijven	36
Bijlage 2 Grondstoffen- en nutriëntensamenstelling proefvoer	37
Bijlage 3 Grondstoffen- en nutriëntensamenstelling eiwit adequaat en laag eiwit voer	38
Bijlage 4 Immuun parameters per bedrijf	39
Bijlage 5 Sectieresultaten	40
Bijlage 6 Resultaten balansstudie	41
Bijlage 7 Effect eiwitaanbod op immuunparameters	42
Bijlage 8 Relatie N-balans en immuunparameters	43
Bijlage 9 Relatie marginale N-efficiëntie en immuun parameters per bedrijf	46

Woord vooraf

Het onderzoek "Relatie tussen bedrijfsgezondheidsstatus, technische resultaten en aminozuurstofwisseling bij vleesvarkens" is uitgevoerd als onderdeel van het project Bedrijfsspecifieke Voeding voor Vleesvarkens. Het project is gefinancierd door het Productschap Diervoeder, het Productschap Vee en Vlees en Wageningen UR. De auteurs bedanken de opdrachtgevers voor de financiële ondersteuning van het onderzoek. Daarnaast bedanken de auteurs de leden van de stuurgroep van het project voor hun waardevolle inhoudelijke bijdrage aan het onderzoek.

Alfons Jansman
Projectleider

Samenvatting

Er is weinig bekend over het effect van de gezondheidsstatus van vleesvarkens op bedrijfsniveau op de technische resultaten, de vertering van het voer en de aminozuurstofwisseling van vleesvarkens. Daarom is voorgenoemde onderzocht op een zestal vleesvarkensbedrijven met een verschillende gezondheidsstatus van de vleesvarkens. Het onderzoek bestond op elk bedrijf uit drie onderdelen:

- Effect van bedrijfsgezondheidsstatus op de technische resultaten, fecale vertering van nutriënten in het voer en systemische immuunparameters.
- Effect van bedrijfsgezondheidsstatus op het metabolisme van essentiële aminozuren.
- Effect van bedrijfsgezondheidsstatus en van het aanbod aan eiwit en aminozuren via het voer op de eiwitaanzet en eiwitbenutting. Dit is gemeten in stikstof (N)-balans onderzoek.

De bedrijfsgezondheidsstatus van zes bedrijven werd in kaart gebracht via de zogenaamde spinnenweb methode, ontwikkeld in het kader van het project "Bedrijfsspecifieke Voeding voor Vleesvarkens". Op basis van de groei van de vleesvarkens, EW-conversie, % uitgevallen dieren, % dieren met pleuritis aan de slachtlijn en % dieren met long- en leverafwijkingen aan de slachtlijn over de jaren 2011 en 2012 werden twee bedrijven (bedrijf 1 en 2) geclassificeerd als hoge gezondheidsstatus bedrijf en vier bedrijven (bedrijf 3 t/m 6) als bedrijven met een suboptimale gezondheidsstatus. Het onderzoek is uitgevoerd van februari tot en met oktober 2013 in 10 vleesvarkenshokken per bedrijf. Op een gewicht van circa 24 kg zijn op elk bedrijf 10 hokken met beren opgelegd in één afdeling. De eerste twee of drie weken na opleg kregen de beren het commerciële startvoer dat op de bedrijven verstrekt werd en konden ze wennen aan de omstandigheden in de afdeling. Vervolgens startte het experiment. Op dag 1, 2 en 3 van het experiment werden de beren geleidelijk overgeschakeld van het commerciële voer op het proefvoer. Daarna kregen ze tot dag 22 het proefvoer verstrekt. Op dag 22 eindigde het experiment. De dieren zijn gewogen op dag 7 en dag 22 na start van het experiment. Op dag 11, 12 en 13 zijn bij drie vleesvarkens per hok mestmonsters genomen voor de bepaling van de stikstofverteerbaarheid van het voer. Daarnaast zijn op dag 7 bij 8 vleesvarkens per bedrijf en op dag 18, 19 en 20 bij 10 vleesvarkens per bedrijf bloedmonsters genomen ter bepaling van een aantal immuunparameters (acute fase eiwitten, bloedcelsamenstelling en enkele specifieke antistoffen). De studie naar de aminozuurstofwisseling is uitgevoerd met 10 dieren per bedrijf (één dier uit elk hok). De stikstofbalans studie is uitgevoerd met acht vleesvarkens per bedrijf (afkomstig uit acht verschillende hokken). Tijdens de stikstofbalans studie kregen de dieren een eiwit adequaat voer verstrekt of een laag eiwit voer en werd de respons van de dieren op het extra eiwitaanbod vastgesteld.

De belangrijkste conclusies uit het onderzoek zijn:

- Er waren significante verschillen in groei en voederconversie tussen de zes bedrijven tijdens het experiment maar deze waren niet gerelateerd aan de classificatie naar gezondheidsstatus van de zes bedrijven, zoals bepaald volgens het spinnenweb concept. De meetperiode van twee weken tijdens het experiment is mogelijk te kort geweest om een relatie te kunnen leggen tussen de technische resultaten gedurende twee weken en de classificatie naar gezondheidsstatus op basis van gegevens over een periode van twee jaar.
- De verteerbaarheid van stikstof in het voer, de N-aanzet en de marginale N-efficiëntie (verhouding tussen extra N-aanzet op het eiwit adequate voer t.o.v. het laag eiwit voer en de extra N-opname) verschilden significant tussen de zes bedrijven. Ook de gemeten immuunparameters (gehalten aan acute fase eiwitten, concentratie neutrofielen en lymfocyten en de anti KLH titers van IgG en IgM in bloed) verschilden tussen de zes bedrijven. Deze verschillen tussen de bedrijven waren echter niet gerelateerd aan de classificatie naar gezondheidsstatus van de zes bedrijven. Subklinische infecties bij één of meerdere in het onderzoek betrokken dieren per bedrijf, inclusief de bedrijven die geclassificeerd waren als hoge gezondheidsstatus bedrijf, zijn mogelijk een oorzaak waarom er op bedrijfsniveau geen relaties zijn gevonden tussen de gemeten stikstof- en immuunparameters en de classificatie naar gezondheidsstatus op bedrijfsniveau.
- Er was een negatieve relatie tussen de groei van de vleesvarkens en de gehalten aan de acute fase eiwitten C-reactief eiwit en PigMap in het bloed. Overige geanalyseerde relaties tussen de

technische resultaten en immuunparameters van de dieren in het onderzoek waren niet significant.

- Met behulp van Principal Component Analysis (PCA) zijn de immuunparameters geclusterd. Er was geen relatie tussen de concentratie aan acute fase eiwitten in het bloed en de zogenaamde "irreversible loss rate" (ILR; maat voor de verdwijning van vrije aminozuren uit het bloed voor eiwitsynthese of oxidatie) en de grootte van de plasma pool van gemeten essentiële aminozuren. Dit betekent dat er in het uitgevoerde onderzoek met klinisch gezonde dieren op praktijkbedrijven geen aanwijzingen zijn gevonden dat dieren met een verhoogd gehalte aan acute fase eiwitten een verhoogde aminozuurstofwisseling en/of -behoefte hebben. Mogelijk zijn de kosten wat betreft essentiële aminozuren voor de productie van acute fase eiwitten relatief gering bij dieren die geen klinische verschijnselen van ziekte of infectie vertonen.
- De resultaten lieten een positieve relatie zien tussen de parameters van het aangeboren (innate) immuun systeem en de ILR van tryptofaan en fenylalanine en de poolgrootte van fenylalanine en isoleucine in bloedplasma. De betekenis van deze relatie is niet geheel duidelijk en dient verder onderzocht te worden.
- Er is geen relatie gevonden tussen de concentratie van acute fase eiwitten in het bloed en de marginale N-efficiëntie en tussen het aangeboren immuunsysteem en de N-efficiëntie.

Summary

So far little is known about the effect of health status of growing-finishing pig farms on the performance, nutrient digestibility and amino acid metabolism of growing pigs. Therefore, the former was investigated on six commercial pig farms with a different health status. On each of the farms the following was investigated:

- Effect of farm health status on the performance, faecal nutrient digestibility and systemic immune parameters.
- Effect of farm health status on the metabolism of essential amino acids.
- Effect of farm health status and the supply of dietary protein and amino acids on protein deposition and protein utilization. This was measured in a nitrogen (N)-balance study.

The health status of the six growing-finishing pig farms was classified via the so-called health status web, which was developed within the project "Bedrijfsspecifieke voeding voor vleesvarkens". Six traits were incorporated in the health status web, related to the zootechnical performance and measurements at slaughter. Based on daily gain, energy conversion ratio, mortality and the percentage of pigs with lung lesions, liver lesions and pleurisy at slaughter in 2011 and 2012, two farms (farm 1 and 2) were classified as farms with a high health status and four farms (farm 3 to 6) were classified as farms with a suboptimal health status. Between February and October 2013, measurements on growth performance, nutrient digestibility, amino acid metabolism and immune system activation were conducted at each farm sequentially. At a body weight of about 24 kg, 10 pens with pigs (boars) in one room were assigned to the experiment on each farm. The first two or three weeks, the pigs had ad libitum access to the commercial diet provided at that farm and they could adapt to the environment in the room. After the adaptation period the experiment started. On day 1, 2 and 3 of the experiment, the pigs were gradually switched from the commercial diet to the experimental diet, which was fed till the end of the experiment at day 22. Pigs were weighed at day 7 and 22. At day 11, 12 and 13 faecal samples were taken in three pigs per pen to calculate the N-digestibility of the diet. Blood samples were taken at day 7 in 8 pigs per farm and at day 18, 19 and 20 in 10 pigs per farm to analyse various immune parameters (acute phase proteins, total white blood cells and the number of lymphocytes and neutrophils and the anti KLH antibody titres IgG and IgM). The metabolism of essential amino acids was studied in 10 pigs per farm (one pig per pen). The N-balance study was conducted in 8 pigs per farm from 8 different pens. During the N-balance study pigs were fed a protein adequate or a protein deficient diet to study the effect of a difference in dietary protein supply on nitrogen retention.

The main conclusions are:

- Daily gain and feed conversion ratio differed between the six farms but these differences were not related to the classification of health status of the six farms according to the health status web. The trial period of two weeks might have been too short to find a relationship between the performance measured during two weeks and the classification of farm health status based on farm data over a period of the two preceding years.
- The faecal digestibility of nitrogen, the N-retention and the marginal N-efficiency (ratio between extra N-deposition on the protein adequate diet compared to the protein deficient diet and N-intake) differed between the six farms. Also various immune parameters in blood differed between the six farms. These differences, however, were not related to the classification of health status of the six farms. Subclinical infections in one or more pigs during the experiment might be the reason that no significant relationships between farm health status and the measured response parameters were found.
- There was a negative relationship between the daily body weight gain of the pigs and the blood concentrations of the acute phase proteins C-reactive protein and PigMap. No other significant relationships were found between the performance data of the pigs and measured immune parameters.

-
- Using Principal Component Analysis (PCA) measured immune parameters were clustered into a limited number of new variables. No clear relationships were found between concentrations of blood acute phase proteins and the irreversible loss rate (ILR; disappearance of plasma amino acids for protein synthesis or for oxidation in organs and tissues) or the plasma pool size of essential amino acids. Thus, there are no indications that N-metabolism and N-requirements are changed or increased in pigs on farms with clinically healthy animals with increased concentrations of acute phase proteins. It might be that the costs for the production of acute phase proteins are relatively low in pigs without clinical signs of an infection.
 - Over all farms, positive relationships exist between parameters of the innate immune system and the ILR of tryptophan and isoleucine and the blood plasma pool size of phenylalanine and leucine. The meaning of these relationships are not clear yet and have to be investigated further.
 - Over farms, there was no clear relationship between the concentration of the acute phase proteins in blood and the marginal N-efficiency, and between parameters of the innate immune system and N-efficiency.

1 Inleiding

De huidige behoeftenormen voor aminozuren zijn vrijwel altijd verkregen in onderzoek met vleesvarkens met een relatief hoge gezondheidsstatus. De technische resultaten van vleesvarkens in de praktijk verschillen echter tussen bedrijven. Dit wordt deels verklaard door verschillen in genotype, voeding en huisvesting maar ook verschillen in gezondheidsstatus van de dieren spelen hierin een rol. Bij een verhoogde infectiedruk wordt het immuunsysteem geactiveerd en dit kan een grote invloed hebben op zowel de aminozuur- als energiebehoefte van de vleesvarkens. Dit bleek o.a. uit een literatuurstudie naar veranderingen in energie- en aminozuurbehoefte van vleesvarkens onder suboptimale omstandigheden (Van der Peet-Schwering en Jansman, 2007). In diverse proeven is onder gecontroleerde, experimentele omstandigheden onderzoek gedaan naar de effecten van een geactiveerd immuunsysteem op de voeropname, groei en aminozuurbehoefte van vleesvarkens (Williams et al., 1997a,b; Le Floch et al., 2008 en 2009; Pastorelli et al., 2012; Kampman-van de Hoek et al., 2015 en 2015b). Onder praktijkomstandigheden is hier echter weinig onderzoek naar gedaan.

Er zijn verschillende methoden om de invloed van gezondheidsstatus op de aminozuurbehoefte in kaart te brengen: 1) het immuunsysteem van dieren activeren via een challenge zoals bijv. het systemisch toedienen van compleet Freund's adjuvans (Kampman-van de Hoek et al., 2015); 2) een verschil aanbreng in sanitaire condities waaronder de dieren gehouden worden (Williams et al., 1997a,b; Le Floch et al., 2008); 3) gebruik maken van dieren afkomstig van bedrijven met een verschillende gezondheidsstatus (Kampman-van de Hoek et al., 2013). Uit het onderzoek van Kampman-van de Hoek et al. (2013) bleek dat vleesvarkens met een verschillende gezondheidsstatus bij selectie zich na overplaatsing in experimentele proeffaciliteiten aanpassen aan de huisvestingcondities waarin de experimentele waarnemingen werden uitgevoerd. Daarom is het belangrijk om metingen uit te voeren op praktijkbedrijven. Er is tot nu toe weinig onderzoek verricht naar de effecten van de gezondheidsstatus van vleesvarkens op bedrijfsniveau op de technische resultaten, de vertering van het voer en de aminozuurbehoefte en aminozuurstofwisseling van de vleesvarkens. Daarom is dit onderzocht op zes vleesvarkensbedrijven met een verschillende bedrijfsgezondheidsstatus.

Het doel van deze studie was:

- Nagaan wat de effecten zijn van de gezondheidsstatus op bedrijfsniveau op de technische resultaten, vertering van nutriënten in het voer, mate van activatie van het immuunsysteem en metabolisme van de (semi-) essentiële aminozuren lysine, methionine, cysteïne, threonine, tryptofaan, valine, isoleucine, leucine, fenylalanine, histidine en tyrosine bij vleesvarkens van circa 40 tot 55 kg lichaamsgewicht.
- Nagaan wat het effect is van de gezondheidsstatus op bedrijfsniveau en van het aanbod aan eiwit en aminozuren via het voer op de eiwitaanzet en eiwitbenutting bij vleesvarkens van circa 40 tot 55 kg lichaamsgewicht.

2 Materiaal en methode

Het onderzoek op de zes vleesvarkensbedrijven bestond op elk bedrijf uit drie onderdelen:

- Effect van de gezondheidsstatus van vleesvarkens op bedrijfsniveau op de technische resultaten, vertering van nutriënten in het voer en activatie van het immuunsysteem.
- Effect van de gezondheidsstatus van vleesvarkens op bedrijfsniveau op het metabolisme van de (semi-) essentiële aminozuren lysine, methionine, cysteïne, threonine, tryptofaan, valine, isoleucine, leucine, fenylalanine, histidine en tyrosine. Dit is gemeten via de isotoopverduunningstechniek (Kampman-van de Hoek et al., 2015).
- Effect van de gezondheidsstatus van de vleesvarkens op bedrijfsniveau en van het aanbod aan eiwit en aminozuren via het voer op de eiwitaanzet en eiwitbenutting. Dit is gemeten in stikstof (N)-balans onderzoek.

2.1 Selectie van de zes bedrijven

Het onderzoek is uitgevoerd op zes vleesvarkensbedrijven. Door vier mengvoerbedrijven zijn gegevens van in totaal 88 vleesvarkensbedrijven aangeleverd die allemaal hetzelfde kruisingstype hadden (Tempo eindbeer x (NL x Y) zeug) en waarvan de volgende gegevens bekend waren over de jaren 2011 en 2012: groei van de vleesvarkens, EW-conversie, % uitgevallen dieren, % dieren met pleuritis aan de slachtlijn en % dieren met long- en leverafwijkingen aan de slachtlijn. Op basis van deze gegevens is de gezondheidsstatus van de bedrijven geclassificeerd als hoog, conventioneel of suboptimaal volgens het spinnenweb concept zoals gepubliceerd in Kampman-van der Hoek et al. (2015a). De bedrijven die geclassificeerd waren als een hoge of suboptimale gezondheidsstatus zijn bezocht om na te gaan of ze geschikt waren voor het onderzoek. Selectiecriteria waren: geschiktheid van het bedrijf om de experimenten uit te voeren, bereidwilligheid van de varkenshouder om mee te willen doen aan het onderzoek en afwezigheid van grote veranderingen in bedrijfsvoering of –management (zoals verandering huisvesting, genotype van de dieren etc.) die de technische resultaten op bedrijfsniveau kunnen hebben beïnvloed. Uiteindelijk zijn zes bedrijven (zie Bijlage 1) geselecteerd die zowel in 2011 als 2012 geclassificeerd waren als een bedrijf met een hoge of suboptimale gezondheidsstatus. Twee van deze bedrijven (bedrijf 1 en 2) waren geclassificeerd als bedrijven met een hoge gezondheidsstatus en vier als bedrijven met een suboptimale gezondheidsstatus (bedrijf 3, 4, 5 en 6).

2.2 Onderzoek naar technische resultaten, vertering en activatie immuunsysteem

2.2.1 Uitvoering

Het onderzoek is uitgevoerd van februari tot en met oktober 2013 in 10 vleesvarkenshokken per bedrijf. Op een gewicht van circa 24 kg zijn op elk bedrijf 10 hokken met beren opgelegd in één afdeling. De eerste twee of drie weken na opleg kregen de beren het commerciële startvoer dat op de bedrijven verstrekt werd en konden ze wennen aan de omstandigheden in de afdeling. Vervolgens startte het experiment. Op dag 1, 2 en 3 van het experiment werden de beren geleidelijk overgeschakeld van het commerciële voer op het proefvoer. Daarna kregen ze tot dag 22 het proefvoer verstrekt. Op dag 22 eindigde het experiment. Het onderzoek is volgtijdig uitgevoerd op de zes bedrijven (zie tabel 1).

2.2.2 Huisvesting en klimaat

Op alle bedrijven had de afdeling waarin het experiment is uitgevoerd 10 hokken voor 9 tot 13 vleesvarkens. Enkele kenmerken van de huisvesting, klimaat, lichtregime en voer- en drinkwatersysteem op de zes bedrijven zijn weergegeven in tabel 1.

Tabel 1

Bedrijfskarakteristieken van de afdelingen op de bedrijven waarin het onderzoek is uitgevoerd.

	Bedrijf 1 ¹	Bedrijf 2	Bedrijf 3	Bedrijf 4	Bedrijf 5	Bedrijf 6
Aantal dieren per hok	12	11	9	10	12	13
Hokgrootte (m)	2,8x3,6	3,0x4,0	2,6x2,8	2,1x4,2	3x3,8	2,6x3,8
Gem. temperatuur (°C) ²	24,7	25,5	22,5	24,2	25,8	25,5
Gem. RV (%) ²	68,3	57,0	56,3	60,9	78,4	62,0
Lichtregime ³	7-19u	daglicht	geen licht	7-19u	7-19u	daglicht
Voersysteem	dvb ⁴	dvb	dvb	dvb	dvb	dvb
Voerniveau	onbeperkt	onbeperkt	onbeperkt	onbeperkt	onbeperkt	onbeperkt
Aantal hokken per voerplaats	2	2	1	2	2	2
Eetplaatsen per hok	2	3	1	2	3	2
Drinkwater	leidingwater	leidingwater	bron	bron	bron	bron
Onderzoek (2013)	februari	maart	april/mei	mei/juni	juli/aug	sept/okt

¹ Bedrijf 1 en 2 waren geclassificeerd als hoge gezondheidsstatus en bedrijf 3, 4, 5 en 6 als suboptimale gezondheidsstatus;

² dagelijks van 9.00 tot 10.00 u gemeten in de afdeling tijdens het experiment; ³ tijdens het experiment waren de lampen aan van 8.00 tot 17.00 u; ⁴ dvb = droogvoerbak

2.2.3 Voeding en drinkwaterverstrekking

Op alle bedrijven werden de vleesvarkens onbeperkt gevoerd via droogvoerbakken. Tijdens het experiment kregen de vleesvarkens een proefvoer (pelletgrootte 3 mm) verstrekt. Op alle bedrijven werd hetzelfde proefvoer verstrekt. Het proefvoer is in één keer aangemaakt en in zakken van 20 kg opgeslagen bij een temperatuur van – 20°C. Twee dagen voordat het proefvoer verstrekt werd op de bedrijven werd het geleidelijk ontdooid. Het voer had een EW van 1,09 en voldeed aan de CVB normen (2011) voor startvoer. Ten behoeve van het verteringsonderzoek was 0,25% titanium dioxide als indicator toegevoegd aan het voer. De grondstoffen- en nutriëntensamenstelling van het proefvoer is weergegeven in Bijlage 2.

Drinkwater was in alle hokken onbeperkt beschikbaar via een drinkbakje of een drinknippel.

2.2.4 Waarnemingen en berekeningen

De volgende waarnemingen zijn uitgevoerd bij de dieren:

Technische resultaten:

- Gewicht van de dieren op dag 7 na start van het experiment en op dag 22 (einde van het experiment);
- Voeropname per hok van dag 7 tot dag 22;
- Bij uitval van een dier zijn de datum, het gewicht, de voeropname in het hok tot dat moment en de mogelijke doodsoorzaak geregistreerd.
- Bij klinisch zieke dieren die uit het experiment zijn gehaald is het diernummer, datum en reden van uit het hok halen vastgelegd.

Verteringsonderzoek:

- Op zowel dag 11, 12 als 13 zijn bij drie vleesvarkens per hok rectale mestmonsters genomen tussen 12.00 en 14.00 u. De bemonsterde dieren kregen een kleurmerk zodat uiteindelijk van 9 dieren per hok een mestmonster genomen is. Van elk mestmonster werd een deelmonster genomen van 30 gram en deze werden tot analyse bewaard in een vriezer bij -18 °C.

- De deelmonsters van 30 gram zijn per hok gepoold. De gepoolde mestmonsters zijn geanalyseerd op de gehalten aan droge stof, as, stikstof en titanium.
- Dagelijks werd een voermonster genomen uit één van de voerzakken. De voermonsters werden gepoold tot één voermonster per bedrijf. De voermonsters zijn geanalyseerd op de gehalten aan droge stof, as, stikstof, titanium en de aminozuren lysine, methionine, cysteine, threonine, tryptofaan, isoleucine, arginine, fenylalanine, histidine, leucine, tyrosine en valine.
- Uit de analyses van de voer- en mestmonsters zijn de schijnbare fecale verteringscoëfficiënten berekend van droge stof, as en stikstof.

Activatie van het immuunsysteem:

- Op dag 7 zijn bij 8 vleesvarkens per bedrijf en op dag 18, 19 en 20 bij 10 vleesvarkens per bedrijf bloedmonsters van 8 ml genomen uit de vena jugularis en opgevangen in serum buisjes die serum clot activator bevatten. Daarnaast is bij deze varkens een bloedmonster van 4 ml genomen uit de vena jugularis en opgevangen in bloedbuisjes die EDTA als antistollingsmiddel bevatten.
- In het serum zijn de gehalten aan de acute fase eiwitten albumine, haptoglobine, PigMAP en C-reactief eiwit bepaald. Daarnaast zijn de anti KLH (keyhole limpet hemocyanin) titers van de natuurlijk antilichamen IgG en IgM bepaald. Natuurlijk antilichamen zijn onderdeel van het aangeboren (innate) immuunsysteem. In de EDTA bloedmonsters is de concentratie witte bloedcellen bepaald en de concentratie lymfocyten en neutrofielen.
- Uit de gehalten aan acute fase eiwitten is de "nutritionele acute fase index" (NAPI) (Kampman-van de Hoek et al., 2015) berekend. De NAPI houdt rekening met de halfwaardetijd van deze eiwitten en is daarom een maat voor de hoeveelheid acute fase eiwitten die geproduceerd moeten worden om een bepaalde concentratie in het bloed te bereiken. NAPI is een indicator voor de nutritionele kosten van de synthese van acute fase eiwitten en wordt als volgt berekend: $NAPI = (PigMAP \text{ (g/L)} / \text{halfwaardetijd}) + (C\text{-reactief eiwit (g/L)} / \text{halfwaardetijd}) + (\text{haptoglobine (g/L)} / \text{halfwaardetijd})$. De halfwaardetijd van PigMAP, C-reactief eiwit en haptoglobine is respectievelijk 132, 19 en 132 uur (zie Kampman-van de Hoek et al., 2015).

2.3 Onderzoek naar eiwit- en aminozuurstofwisseling

2.3.1 Dieren, huisvesting en voeding

Op dag 16 van het experiment werd uit elk hok één dier (in totaal tien dieren) geselecteerd voor de studie naar de eiwit- en aminozuurstofwisseling. Selectiecriteria waren: gewicht dicht bij het gemiddeld gewicht van het hok en de venestructuur in het oor is geschikt voor het plaatsen van een katheter. De geselecteerde dieren werden individueel gehuisvest in balanskooien van 1,6 x 0,7 m. De balanskooi stond in het hok waar het dier uit kwam zodat neuscontact met hokgenoten mogelijk bleef. Het onderstel van de balanskooi was er afgehaald zodat de balanskooi op de grond stond en de dieren zich op dezelfde hoogte bevonden als de hokgenoten. De dieren konden drie dagen (dag 17, 18 en 19) wennen aan de nieuwe huisvesting voordat de studie naar de eiwit- en aminozuurstofwisseling startte. De dieren in de balanskooi werden beperkt gevoerd op 2,7 x de onderhoudsbehoefte (458 kJ ME/kg^{0,75}) voor energie. 's Ochtends om 8.00 u kregen ze de helft van het proefvoer (zie Bijlage 2) verstrekt en 's middags om 15.30 u de andere helft. Drinkwater stond onbeperkt ter beschikking.

2.3.2 Waarnemingen en berekeningen

De volgende waarnemingen zijn uitgevoerd:

- Op dag 20 werden de dieren gewogen en werden onder volledige narcose twee katheters in de bloedcirculatie geplaatst (één in het linkeroor en één in het rechteroor).
- Op dag 21 startte de studie naar de eiwit- en aminozuurstofwisseling via de isotoopverduunningstechniek. Op deze dag werd de dagelijkse voerportie verdeeld over 10 voerbeurten zodat het aminozuuraanbod vanuit het maagdarmkanaal gedurende de meting in een steady state was. Twee voerporties werden om 8.00 u verstrekt en vervolgens elk uur 1 voerportie tot 16.00 u. Om 12.30 u kregen de dieren een bolus-infusie met een mix van U-¹³C gelabelde aminozuren opgelost in 20 ml fysiologisch zout toegediend via één van beide

oorkatheters. De samenstelling van de mix per gram was 0,16 mg isoleucine, 0,16 mg leucine, 0,17 mg lysine, 0,06 mg methionine, 0,13 mg fenylalanine, 0,07 mg tryptofaan, 0,16 mg tyrosine, 0,19 mg valine, 0,04 mg cystine, 0,08 mg histidine en 0,18 mg threonine. Tien minuten voor de infusie van de gelabelde aminozuren en 3, 5, 7, 9, 11, 15, 25, 45, 80 en 120 minuten na infusie werd een bloedmonster van 2,5 ml uit het andere oor genomen. Het bloed werd opgevangen in buisjes van 9 ml die heparine bevatten. De buisjes met bloed werden 10 minuten gecentrifugeerd en vervolgens werd het bloedplasma opgevangen en tot analyse bewaard bij -20°C. In het plasma van elk bloedmonsters werd de ¹³C verrijking van de gelabelde aminozuren gemeten met gas chromatografie combustion – isotoop ratio mass spectrometrie (GC-C-IRMS) (Huang et al., 2011). De ¹³C verrijking van de individuele aminozuren in het bloedplasma is weergegeven als tracer-to-trace ratio (TTR), de ratio tussen de tracer (¹³C aminozuur) en de tracee (¹²C aminozuur). De verandering van de TTR in de tijd is berekend door van elk aminozuur de verrijking in het bloedplasma voor infusie te berekenen en dit af te trekken van de ¹³C verrijking na infusie. Vervolgens is de verdwijningssnelheid uit het bloed (Irreversible Loss Rate, ILR) van elk aminozuur berekend met behulp van het mathematisch model en de berekeningen zoals beschreven door Holtrop et al. (2004) en Kampman-van de Hoek et al. (2015). De ILR is de hoeveelheid van een aminozuur die per kg lichaamsgewicht per uur verdwijnt uit de aminozuurpool in het bloedplasma gerelateerd aan het gebruik voor eiwitsynthese en voor oxidatie in het metabolisme in weefsels en organen.

- De plasma poolgrootte per aminozuur werd als volgt berekend:
Poolgrootte = $d_0 / (a_1 + a_2)$, waarin d_0 de toegevoegde dosis van het U-¹³C gelabelde aminozuur is (in μmol per kg lichaamsgewicht); a_1 en a_2 zijn parameter schattingen op basis waarvan de ILR werd berekend (Kampman-van de Hoek et al., 2015).
- Op dag 22 zijn de dieren geëuthanaseerd en ter sectie aangeboden bij de GD. De longen en de darmen zijn visueel beoordeeld door een patholoog en, indien er aanleiding voor was, is aanvullend bacterieel onderzoek gedaan.

2.4 Stikstofbalans studie

2.4.1 Dieren en huisvesting

Op dag 6 zijn 8 vleesvarkens per bedrijf (afkomstig uit 8 verschillende hokken met dieren die ook in het onderzoek beschreven in paragraaf 2.3 zijn gebruikt) geselecteerd voor de N-balans studie. Selectiecriteria waren: lichaamsgewicht dicht bij het gemiddeld gewicht van het hok. De geselecteerde dieren werden individueel gehuisvest in balanskooien van 1,6 x 0,7 m. De balanskooien stonden in lege hokken in de afdeling waarin de dieren daarvoor gehuisvest waren.

2.4.2 Voeding en drinkwaterverstrekking

Op dag 6 en 7 kregen de dieren hetzelfde proefvoer (zie Bijlage 2) verstrekt als de dagen ervoor. Op dag 8 werden ze overgeschakeld op een eiwit adequaat voer (4 vleesvarkens per bedrijf) of op een laag eiwit voer (4 vleesvarkens per bedrijf). Ze kregen een mengsel van 33% proefvoer en 67% van het eiwit adequate of laag eiwit voer. Vanaf dag 9 tot dag 14 kregen ze alleen het eiwit adequate of het laag eiwit voer verstrekt. Van dag 9 tot 11 konden ze wennen aan het voer en van dag 12 tot 14 werd de eerste N-balans studie uitgevoerd. Op dag 15 werden de vleesvarkens die het eiwit adequate voer kregen abrupt overgeschakeld op het laag eiwit voer. De vleesvarkens die het laag eiwit voer kregen werden abrupt overgeschakeld op het eiwit adequate voer. Van dag 15 tot 17 konden ze wennen aan het voer en van dag 18 tot 20 werd de tweede N-balans studie uitgevoerd.

De grondstoffen- en nutriëntensamenstelling van het eiwit adequate en het laag eiwit voer zijn weergegeven in Bijlage 3. In het laag eiwit voer waren het eiwit- en de aminozuurgehalten 30% lager dan in het eiwit adequate voer. De overige nutriëntengehalten waren vergelijkbaar in de twee voeders. Het eiwit adequate voer voldeed aan de CVB-normen (CVB, 2011). Het eiwit adequate voer bestond uit een basisvoer waaraan de eiwitbronnen caseïne, tarwegluten, soja eiwit isolaat en aardappeleiwit waren toegevoegd. Het laag eiwit voer bestond uit hetzelfde basisvoer met daaraan toegevoegd 70% van de hoeveelheid van de eiwitbronnen zoals toegevoegd aan het eiwit adequate voer. Om alle varkens dezelfde hoeveelheid basisvoer te verstrekken (gebaseerd op metabool

gewicht) kregen de vleesvarkens op het eiwit deficiënte voer 94,3% van de voerhoeveelheid die de varkens op het eiwit adequate voer kregen. De dieren werden beperkt gevoerd op 2,7 x de onderhoudsbehoefte ($458 \text{ kJ ME/kg}^{0.75}$) voor energie (gebaseerd op het gewicht op dag 7 en op dag 14). 's Ochtends om 8.00 u kregen ze de helft van het voer verstrekt en 's middags om 15.30 u de andere helft. De voeders werden in meelvorm verstrekt en gemengd met water in een water : voerverhouding van 3:1.

2.4.3 Waarnemingen en berekeningen

De volgende waarnemingen zijn uitgevoerd:

- Dertig minuten na het voeren werden eventuele voerresten verzameld en gewogen.
- Op de N-balans dagen (dag 12 tot 14 en dag 18 tot 20) werden de mest en urine van elk vleesvarken kwantitatief verzameld.
- De stikstofaanzet is als volgt berekend:
 - o $N\text{-aanzet (gram)} = N\text{-opname} - N\text{ in mest} - N\text{ in urine.}$
 - o $N\text{-aanzet (\% van totale N-opname)} = (N\text{-aanzet} / \text{totale N-opname}) \times 100\%.$
 - o $N\text{-aanzet (\% van verteerbare N-opname)} = (N\text{-aanzet} / \text{verteerbare N-opname}) \times 100\%.$
- De marginale N-efficiëntie = $(N\text{-aanzet adequaat voer} - N\text{-aanzet laag eiwit voer}) / (N\text{-opname adequaat voer} - N\text{-opname laag eiwit voer}).$
- Op dag 7, dag 15 en dag 21 zijn bloedmonsters bij de dieren genomen ter bepaling van de gehalten aan de acute fase eiwitten (albumine, haptoglobine, PigMAP en C-reactief eiwit), de concentratie witte bloedcellen en de anti KLH (keyhole limpet hemocyanin) IgG en IgM titers.
- Uit de gehalten aan acute fase eiwitten is de NAPI berekend (zie par. 2.2.4).

2.5 Gegevensverwerking en statistische analyse

Alle gegevens zijn geanalyseerd met de GLM procedure van SAS 9.2 (SAS Inst. Inc., Cary, NC).

Technische resultaten, vertering en immuunparameters:

Groei, voeropname en voederconversie van dag 7 tot dag 22 zijn op hokniveau (of per 2 hokken bij één voerplaats voor twee hokken) geanalyseerd met het volgende model: $Y = \mu + \text{bedrijf} + \text{rest}.$ Het gemiddeld gewicht van de dieren per hok op dag 7 is meegenomen als covariabele in het model.

De verteringscoëfficiënten voor droge stof, stikstof en as zijn op hokniveau geanalyseerd met het volgende model: $Y = \mu + \text{bedrijf} + \text{rest}.$

De immuunparameters zijn op dierniveau geanalyseerd met het volgende model: $Y = \mu + \text{bedrijf} + \text{dag van monsternamen} + \text{bedrijf} \times \text{dag van monsternamen} + \text{rest}.$ Bij de kenmerken concentratie bloedcellen, concentratie neutrofielen en lymfocyten, gehalte aan haptoglobine en NAPI is voor analyse een logtransformatie toegepast omdat de waarden van deze kenmerken niet normaal verdeeld waren. Bij de kenmerken C-reactief eiwit en PigMAP is een worteltransformatie toegepast. Bij de kenmerken albumine, percentage neutrofielen en lymfocyten en de anti KLH IgG en IgM titers is voor analyse geen transformatie toegepast. De waarden van deze kenmerken waren normaal verdeeld.

Met behulp van de GLM procedure zijn de relaties berekend tussen de technische resultaten (hokniveau) en de immuunparameters (individueel dierniveau) en tussen de verteringscoëfficiënten (hokniveau) en de immuunparameters (individueel dierniveau). Het model zag er als volgt uit: $Y = \mu + b \times \text{immuunparameters} + \text{bedrijf} + \text{immuunparameters} \times \text{bedrijf} + \text{rest},$ waarin Y de technische resultaten of de verteringscoëfficiënten van droge stof, stikstof en as zijn.

Eiwit- en aminozuurstofwisseling:

De ILR en poolgrootte per aminozuur zijn op dierniveau geanalyseerd met het volgende model:

$$Y = \mu + \text{bedrijf} + \text{rest.}$$

Om na te gaan of er relaties zijn tussen de immuunparameters en de gemeten parameters ten aanzien van de aminozuurstofwisseling (ILR en poolgrootte) zijn de immuunparameters eerst geclusterd met behulp van een Principal Component Analysis (PCA). Bij PCA wordt gebruikt gemaakt van de variatie in immuunparameters tussen en binnen bedrijven om nieuwe onafhankelijke immuun gerelateerde parameters (factoren 1 – 4) te genereren. De vier factoren samen verklaarden 75% van de gemeten variatie in de waarden van de gemeten immuunparameters.

Vervolgens zijn met behulp van de GLM procedure relaties berekend tussen de vier factoren en de aminozuurstofwisseling (ILR en poolgrootte). Het model zag er als volgt uit: $Y = \mu + b \times \text{factor} + \text{bedrijf} + \text{factor} \times \text{bedrijf} + \text{rest}$, waarin Y de ILR of poolgrootte is.

Stikstofbalansstudie:

De N-opname, N-uitscheiding in de mest, N-uitscheiding in de urine, verteringscoëfficiënt van stikstof, N-aanzet en % N-aanzet zijn op dierniveau geanalyseerd met het volgende model:

$Y = \mu + \text{bedrijf} + \text{eiwitaanbod (adequaat eiwit versus laag eiwit)} + \text{periode (N-balans 1 versus N-balans 2)} + \text{eiwitaanbod} \times \text{bedrijf} + \text{eiwitaanbod} \times \text{periode} + \text{rest}$. Het gemiddelde gewicht van de dieren tijdens respectievelijk N-balans 1 en N-balans 2 is meegenomen als covariabele in het model.

De gehalten aan acute fase eiwitten, de concentratie witte bloedcellen, de concentratie neutrofielen, de concentratie lymfocyten en de anti KLH IgG en IgM titers zijn op dierniveau geanalyseerd met het volgende model:

$Y = \mu + \text{bedrijf} + \text{eiwitaanbod (adequaat eiwit versus laag eiwit)} + \text{periode (N-balans 1 versus N-balans 2)} + \text{eiwitaanbod} \times \text{bedrijf} + \text{eiwitaanbod} \times \text{periode} + \text{rest}$. De bloedwaarden op dag 7 (dag voor de start van het adequate en het laag eiwit voer) zijn meegenomen als co-variabele in het model.

Met behulp van de GLM procedure zijn de relaties berekend tussen de stikstofbalans variabelen en de immuunparameters. Het model zag er als volgt uit:

$Y = \mu + b \times \text{immuunparameters} + \text{bedrijf} + \text{eiwitaanbod (adequaat eiwit versus laag eiwit)} + \text{immuunparameter} \times \text{eiwitaanbod} + \text{immuunparameter} \times \text{bedrijf} + \text{rest}$, waarin Y de stikstofbalans variabelen zijn.

Daarnaast is nagegaan of er relaties zijn tussen de immuunparameters en de marginale N-efficiëntie. De immuunparameters zijn geclusterd met behulp PCA. Er zijn drie clusters van variabelen gevormd (factor 1 t/m 3), die onafhankelijk zijn van elkaar. De drie factoren samen verklaarden 64% van de variatie in de waarde van de immuunparameters.

Vervolgens zijn met behulp van de GLM procedure relaties berekend tussen de drie factoren en de marginale N-efficiëntie. Het model zag er als volgt uit: $Y = \mu + b \times \text{factor} + \text{bedrijf} + \text{factor} \times \text{bedrijf} + \text{rest}$, waarin Y de marginale N-efficiëntie is.

3 Resultaten

3.1 Technische resultaten, vertering en immuunparameters

3.1.1 Technische resultaten

De technische resultaten van de vleesvarkens in het experiment van dag 7 tot dag 22 en de technische resultaten van opleg tot afleveren van alle vleesvarkens op de zes bedrijven in 2011 zijn weergegeven in tabel 2.

Tabel 2

Technische resultaten van de vleesvarkens in het experiment van dag 7 tot dag 22 en de technische resultaten van opleg tot afleveren van alle vleesvarkens op de zes bedrijven in 2011.

Bedrijf ¹	1	2	3	4	5	6	SEM ²	P-waarde
<i>Technische resultaten tijdens experiment van dag 7 tot 22:</i>								
Gewicht op dag 7 (kg)	46,1	38,8	36,9	39,7	45,9	44,7		
Gewicht op dag 22 (kg)	59,4	53,8	50,3	53,3	58,4	58,5		
Groei (g/d)	890 ^b	1002 ^c	896 ^b	902 ^b	828 ^a	1058 ^c	30,7	<0,0001
Groei (g/kg ^{0,75} /d)	45,3 ^a	56,5 ^c	52,9 ^{bc}	50,8 ^b	42,4 ^a	55,0 ^c	1,69	<0,0001
Spreiding in groei binnen hokken (g/d)	53,5 ^a	47,4 ^a	49,6 ^a	40,7 ^a	72,9 ^b	45,9 ^a	7,21	0,001
Voeropname (kg/d)	1,91 ^c	1,94 ^c	1,66 ^a	1,77 ^b	1,87 ^c	2,04 ^d	0,04	<0,0001
Voeropname (g/kg ^{0,75} /d)	97,5 ^a	109,4 ^b	97,7 ^a	99,4 ^a	96,4 ^a	106,0 ^b	0,67	<0,0001
Voederconversie	2,16 ^b	1,94 ^a	1,85 ^a	1,95 ^a	2,27 ^b	1,91 ^a	0,07	<0,0001
<i>Technische resultaten van opleg tot afleveren in 2011:</i>								
Groei (g/d)	925	919	823	802	790	831		
EW-conversie	2,64	2,70	2,60	3,0	2,78	2,80		
Uitgevallen dieren (%)	1,4	1,2	3,1	4,0	2,3	2,4		

¹ Bedrijf 1 en 2 waren vooraf geclassificeerd als hoge gezondheidsstatus bedrijf en bedrijf 3, 4, 5 en 6 als suboptimale gezondheidsstatus bedrijf; ² SEM = gepoolde standaard error van het gemiddelde; ^{a,b,c} gemiddelden binnen een rij met een verschillende letter verschillen significant ($p < 0,05$)

Uit tabel 2 blijkt dat de groei, voeropname en voederconversie van de vleesvarkens van dag 7 tot dag 22 significant verschillen tussen de zes bedrijven. De groei (in g/kg^{0,75}/d) was het hoogst op de bedrijven 2 en 6 en het laagst op de bedrijven 1 en 5. De groei op de twee andere bedrijven lag hier tussen in. De voeropname (in g/kg^{0,75}/d) was duidelijk hoger op de bedrijven 2 en 6 dan op de bedrijven 1, 3, 4 en 5. De voederconversie was hoger op de bedrijven 1 en 5 dan op de bedrijven 2, 3, 4 en 6. In het jaar 2011 was de groei van de vleesvarkens hoger en het percentage uitgevallen dieren lager op de bedrijven 1 en 2 dan op de bedrijven 3, 4, 5 en 6.

3.1.2 Verteringsonderzoek

In tabel 3 zijn de schijnbare fecale verteringscoëfficiënten weergegeven van droge stof, as en stikstof van het proefvoer dat gevoerd is aan de vleesvarkens op de zes bedrijven.

Tabel 3

Schijnbare fecale verteringscoëfficiënten (%) van droge stof, as en stikstof van het proefvoer dat gevoerd is aan de vleesvarkens op de zes bedrijven.

Bedrijf ¹	1	2	3	4	5	6	SEM ²	P-waarde
Droge stof	85,1 ^d	84,5 ^{bc}	83,7 ^a	84,3 ^{bc}	84,0 ^{ab}	84,8 ^{dc}	0,31	0,0004
Stikstof	81,2 ^d	79,4 ^{abc}	78,3 ^{ab}	79,5 ^{bc}	78,1 ^a	80,6 ^{dc}	0,70	0,0001
As	52,3	53,2	51,5	53,1	51,6	51,5	0,85	0,15

¹ Bedrijf 1 en 2 waren vooraf geclassificeerd als hoge gezondheidsstatus bedrijf en bedrijf 3, 4, 5 en 6 als suboptimale gezondheidsstatus bedrijf; ² SEM = gepoolde standaard error van het gemiddelde; ^{a,b,c,d} gemiddelden binnen een rij met een verschillende letter verschillen significant (p < 0,05)

Uit tabel 3 blijkt dat de schijnbare fecale verteringscoëfficiënten van droge stof en stikstof van het proefvoer duidelijk verschillen tussen de zes bedrijven. De verteringscoëfficiënt van droge stof varieerde tussen 83,7 en 85,1% en die van stikstof tussen 78,1 en 81,2%. Beide verteringscoëfficiënten waren het hoogst op bedrijf 1 en het laagst op bedrijf 3. De verteringscoëfficiënt van as verschilde niet significant tussen de zes bedrijven.

3.1.3 Immuunparameters van de vleesvarkens

In tabel 4 zijn de gehalten aan de acute fase eiwitten, de anti KLH IgG en IgM titers en de concentratie witte bloedcellen in het bloed weergegeven, die gemeten zijn op dag 7 en dag 18, 19 en 20.

Tabel 4

Acute fase eiwitten, anti KLH IgG en IgM titers en de concentratie witte bloedcellen in bloed gemeten op dag 7 bij 8 vleesvarkens per bedrijf en op dag 18, 19 en 20 bij 10 vleesvarkens per bedrijf.

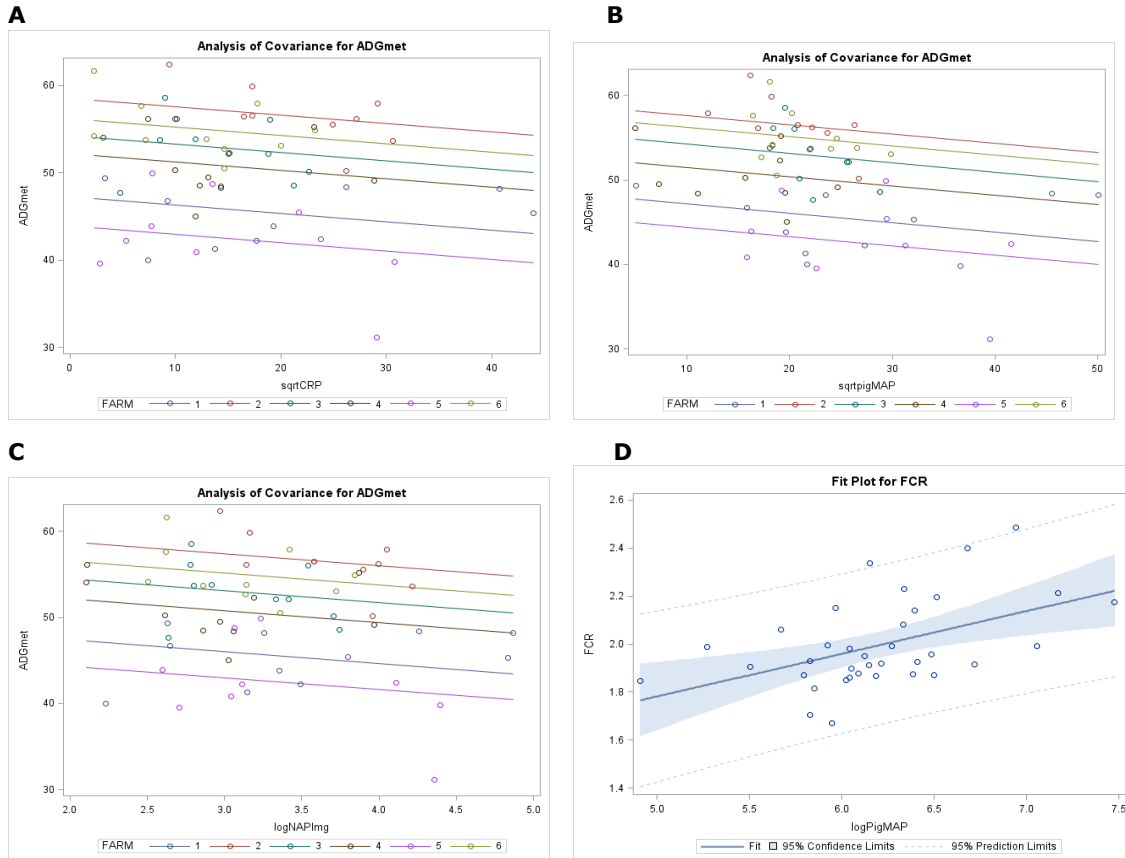
Bedrijf ¹	1	2	3	4	5	6	SEM ²	P-waarde
C-reactief eiwit (mg/l) ³	516 ^{ab}	625 ^b	385 ^{ab}	336 ^a	288 ^a	356 ^a	3,1	0,08
PigMAP (mg/l) ³	720 ^b	387 ^a	413 ^a	333 ^a	756 ^b	424 ^a	2,5	0,001
Haptoglobine (g/l) ³	1,08 ^a	1,42 ^b	0,87 ^a	0,82 ^a	1,30 ^b	1,09 ^{ab}	0,20	0,02
Albumine (g/l) ⁴	40,6 ^a	41,8 ^a	46,0 ^b	44,6 ^b	39,5 ^a	39,9 ^a	1,33	<0,0001
WBC (10 ⁹ /l) ³	23,8	26,2	23,9	21,6	23,1	20,9	0,09	0,17
Neutrofielen (10 ⁹ /l) ³	11,6 ^b	12,4 ^b	11,3 ^b	10,6 ^b	8,9 ^a	8,6 ^a	0,15	0,01
Lymfocyten (10 ⁹ /l) ⁴	11,4 ^{ab}	13,0 ^{bc}	11,6 ^{abc}	10,4 ^a	13,4 ^c	11,5 ^{abc}	0,97	0,08
Neutrofielen (%) ⁴	48,6 ^b	47,3 ^b	46,3 ^b	48,2 ^b	34,6 ^a	40,7 ^{ab}	4,0	0,004
Lymfocyten (%) ⁴	48,6 ^a	49,5 ^a	49,3 ^a	49,0 ^a	61,3 ^b	54,9 ^{ab}	3,9	0,007
Anti KLH titer van IgG ⁴	4,96 ^e	4,21 ^{ab}	3,86 ^{ab}	4,43 ^{bc}	3,76 ^a	4,49 ^{bc}	0,34	0,006
Anti KLH titer van IgM ⁴	4,96	4,26	4,31	4,76	4,94	4,91	0,31	0,08
NAPI ^{3,5}	3,40	3,75	3,23	3,14	3,23	3,31	0,22	0,08

¹ Bedrijf 1 en 2 waren vooraf geclassificeerd als hoge gezondheidsstatus bedrijf en bedrijf 3, 4, 5 en 6 als suboptimale gezondheidsstatus bedrijf; ² SEM = gepoolde standaard error van het gemiddelde; ³ Data zijn weergegeven als mean ± SEM; ⁴ Data zijn weergegeven als LSM ± SEM; ⁵ NAPI = nutritionele acute fase index; ^{a,b,c,d} gemiddelden binnen een rij met een verschillende letter verschillen significant (p < 0,05)

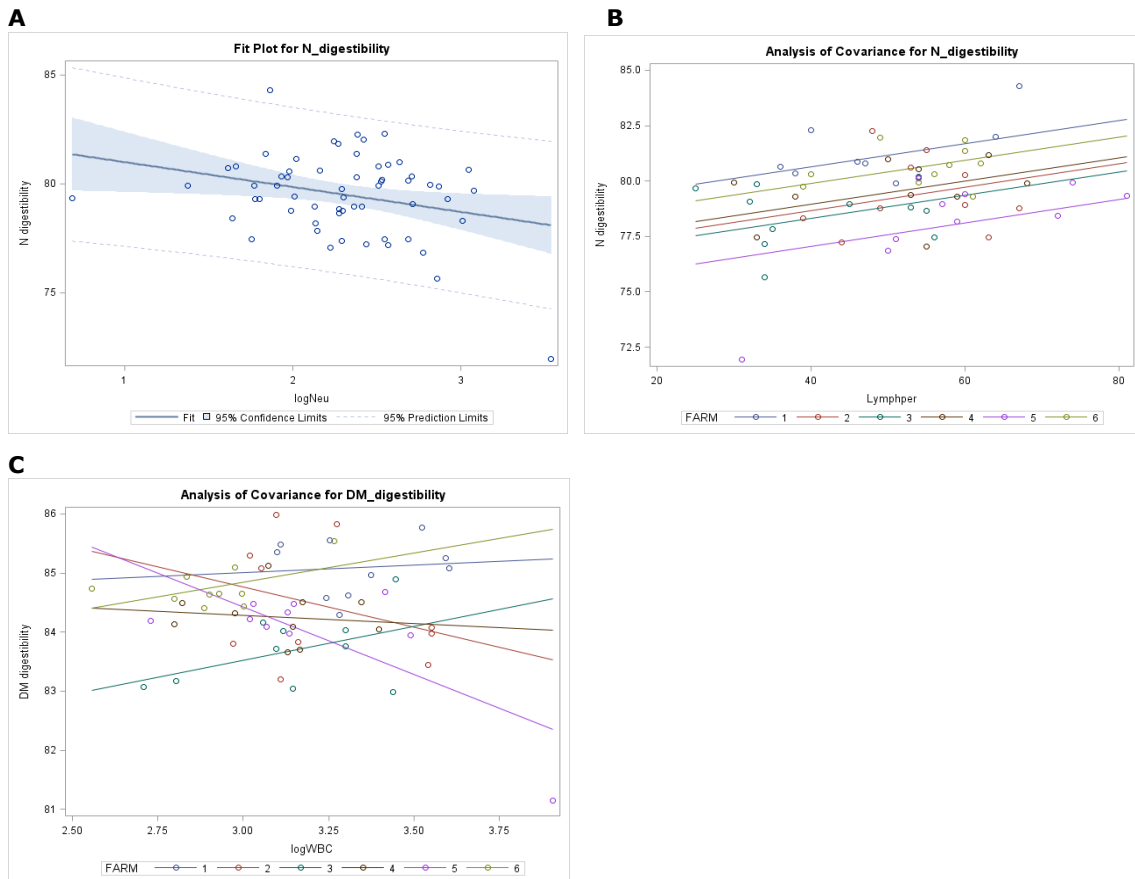
Uit tabel 4 blijkt dat de gehalten aan de acute fase eiwitten PigMAP, haptoglobine en albumine duidelijk verschillen tussen de zes bedrijven. PigMAP varieerde van 333 tot 756 mg/l en was hoger op de bedrijven 1 en 5 dan op de bedrijven 2, 3, 4 en 6. Haptoglobine varieerde tussen de 0,82 en 1,42 g/l en was het hoogst op de bedrijven 2 en 5. Albumine varieerde van 39,5 tot 46,0 g/l en was het hoogst op de bedrijven 3 en 4. C-reactief eiwit varieerde van 288 tot 625 maar verschilde niet duidelijk tussen de bedrijven (p = 0,08). De concentratie witte bloedcellen in de bloedmonsters verschilde niet significant tussen de zes bedrijven. De verdeling van de witte bloedcellen over neutrofielen en lymfocyten verschilde wel duidelijk tussen bedrijven. Het percentage neutrofielen was het laagst op de bedrijven 5 en 6. Het percentage lymfocyten was op deze bedrijven het hoogst. De anti KLH IgG titer varieerde tussen 3,76 en 4,96 en was het hoogst op bedrijf 1 en het laagst op de bedrijven 3 en 5. De anti KLH IgM titer varieerde van 4,25 tot 4,96 tussen de zes bedrijven (p = 0,08). NAPI varieerde van 3,14 tot 3,75 tussen de zes bedrijven (p = 0,08).

3.1.4 Relatie tussen technische resultaten, vertering en immuunparameters

Nagegaan is of er relaties zijn tussen de technische resultaten van dag 7 tot 22 en de immuunparameters en tussen de verteringscoëfficiënten en de immuunparameters. In figuur 1 is de relatie tussen de groei ($\text{g/kg}^{0,75}/\text{d}$) van de vleesvarkens en concentraties C-reactief eiwit en PigMap in bloed en de NAPI weergegeven. Daarnaast is de relatie tussen de voederconversie en concentratie PigMap in bloed weergegeven. De overige relaties tussen de technische resultaten en de immuunparameters waren niet significant.



Figuur 1 Relatie tussen de groei ($\text{g/kg}^{0,75}/\text{d}$) van de vleesvarkens en de concentraties C-reactief eiwit (A) en PigMAP (B) in bloed en NAPI (C) en tussen de voederconversie en de concentratie PigMAP in bloed (D); bij A, B en C is er sprake van een bedrijfseffect, bij D is er geen bedrijfseffect.



Figuur 2 Relatie tussen de verteringscoëfficiënt van stikstof en de concentratie neutrofielen (A) en het percentage lymfocyten (B) en tussen de verteringscoëfficiënt van droge stof en de concentratie witte bloedcellen (C); bij A is er geen bedrijfseffect, bij B is er sprake van een bedrijfseffect, bij C is er een interactie tussen bedrijf en de concentratie witte bloedcellen.

Uit figuur 1 blijkt dat er een tendens is tot een negatieve relatie tussen de groei ($\text{g/kg}^{0,75}/\text{d}$) van de vleesvarkens en de concentraties C-reactief eiwit ($p = 0,09$; $b = -0,096$; Figuur 1A) en PigMAP ($p = 0,09$; $b = -0,110$; Figuur 1B) in bloed en de berekende NAPI ($p = 0,10$; $b = -1,38$; Figuur 1C). De relaties verschillen tussen de zes bedrijven ($p = 0,0001$). Er is een positieve relatie tussen voederconversie en de concentratie PigMap in bloed ($p = 0,002$; $b = 0,18$).

In figuur 2 is de relatie tussen de verteringscoëfficiënt van stikstof en de concentratie neutrofielen en het percentage lymfocyten in bloed weergegeven. Daarnaast is de relatie tussen de verteringscoëfficiënt van droge stof en de concentratie witte bloedcellen weergegeven. De overige relaties tussen de verteringscoëfficiënten en de gemeten immuunparameters waren niet significant. Uit figuur 2 blijkt dat er een negatieve relatie is tussen de concentratie neutrofielen en de verteringscoëfficiënt van stikstof ($p = 0,026$; $b = -1,145$). Er is geen bedrijfseffect. Daarnaast is er een positieve relatie tussen het percentage lymfocyten en de verteringscoëfficiënt van stikstof ($p = 0,005$; $b = 0,053$). Deze relatie verschilt tussen de zes bedrijven ($p < 0,0001$). Wat betreft de verteringscoëfficiënt van droge stof is er een significante relatie met de interactie tussen bedrijf en de concentratie witte bloedcellen ($p = 0,031$).

3.2 Eiwit- en aminozuurstofwisseling

3.2.1 Irreversible loss rate (ILR)

De ILR en de poolgrootte per aminozuur zijn weergegeven in tabel 5. De ILR en poolgrootte zijn gemeten bij in totaal 51 dieren (8 of 9 dieren per bedrijf). Dieren met relatief grote voerresten op de meetdag (vijf dieren) zijn niet meegenomen in de resultaten. De ILR en poogrootte van methionine en fenylalanine konden niet geanalyseerd worden op bedrijf 2, 3 en 4.

Tabel 5

Irreversible loss rate (ILR) (in μmol per kg lichaamsgewicht per uur) en poolgrootte (in μmol per kg lichaamsgewicht) van plasma aminozuren gemeten op dag 21 bij vleesvarkens.

Bedrijf ¹	1	2	3	4	5	6	SEM ²	P-waarde
Isoleucine (n=46)								
- ILR	319	341	351	373	321	315	27	0,59
- Poolgrootte	48	27	41	46	37	36	7	0,38
Leucine (n=44)								
- ILR	556	563	634	633	593	549	45	0,59
- Poolgrootte	74	39	64	68	67	56	11	0,32
Valine (n=45)								
- ILR	484	511	503	528	470	486	28	0,72
- Poolgrootte	97	49	71	79	68	77	13	0,32
Lysine (n=46)								
- ILR	630	535	636	668	552	585	43	0,22
- Poolgrootte	111	52	85	104	76	83	14	0,08
Tyrosine (n=46)								
- ILR	243	256	262	299	242	235	23	0,38
- Poolgrootte	41	45	38	47	34	36	8	0,83
Tryptofaan (n=45)								
- ILR	119 ^{ab}	77 ^a	100 ^{ab}	123 ^b	74 ^a	78 ^a	11	0,007
- Poolgrootte	25 ^a	13 ^{ab}	13 ^{ab}	21 ^{ab}	11 ^b	16 ^{ab}	3	0,06
Methionine (n=22)								
- ILR	205 ^a	n.a.	n.a.	n.a.	166 ^a	105 ^b	16	0,003
- Poolgrootte	28 ^a	n.a.	n.a.	n.a.	14 ^{ab}	8 ^b	5	0,03
Fenylalanine (n=23)								
- ILR	479 ^a	n.a.	n.a.	n.a.	229 ^b	247 ^b	23	< 0,0001
- Poolgrootte	70 ^a	n.a.	n.a.	n.a.	37 ^b	35 ^b	9	0,03

¹ Bedrijf 1 en 2 waren vooraf geclassificeerd als hoge gezondheidsstatus bedrijf en bedrijf 3, 4, 5 en 6 als suboptimale gezondheidsstatus bedrijf; ² SEM = gepoolde standaard error van het gemiddelde; n.a. = niet geanalyseerd; ^{a,b} gemiddelden binnen een rij met een verschillende letter verschillen significant ($p < 0,05$)

De ILR van isoleucine, leucine, valine, lysine en tyrosine verschilde niet significant tussen de zes bedrijven. De ILR van tryptofaan was hoger op bedrijf 4 dan op bedrijf 2, 5 en 6. De ILR van methionine was hoger op bedrijf 1 en 5 dan op bedrijf 6, die van fenylalanine was hoger op bedrijf 1 dan op bedrijf 5 en 6. De poolgrootte van isoleucine, leucine, valine en tyrosine verschilde niet significant tussen de zes bedrijven. De poolgrootte van lysine was hoger op bedrijf 1 dan op bedrijf 2, die van tryptofaan hoger op bedrijf 1 dan op bedrijf 5, die van methionine hoger op bedrijf 1 dan op bedrijf 6 en die van fenylalanine hoger op bedrijf 1 dan op bedrijf 5 en 6.

3.2.2 Relatie tussen immuunparameters en aminozuurstofwisseling

Om na te gaan of er relaties zijn tussen de gemeten immuunparameters en de aminozuurstofwisseling (ILR en plasma poolgrootte van aminozuren) zijn de immuunparameters geclusterd met behulp van PCA. De resultaten van deze clustering staan in tabel 6. Er zijn vier factoren (clusters van variabelen) gevormd, die onafhankelijk zijn van elkaar. Factor 1 heeft een hoge correlatie met de concentratie aan acute fase eiwitten, factor 2 met de concentratie lymfocyten, factor 3 met de respons van het aangeboren (innate) immuun systeem en factor 4 met de anti-KLH IgM respons, eveneens onderdeel van het innate immuunsysteem. De eigenwaarde van elke factor was > 1 , aangevend dat elk van de nieuwe variabelen een significante bijdrage levert aan de verklaring van gevonden variatie. De vier factoren samen verklaarden 75% van de variatie in de waarde van de immuunparameters. Boxplots van de vier factoren per bedrijf zijn weergegeven in Bijlage 4.

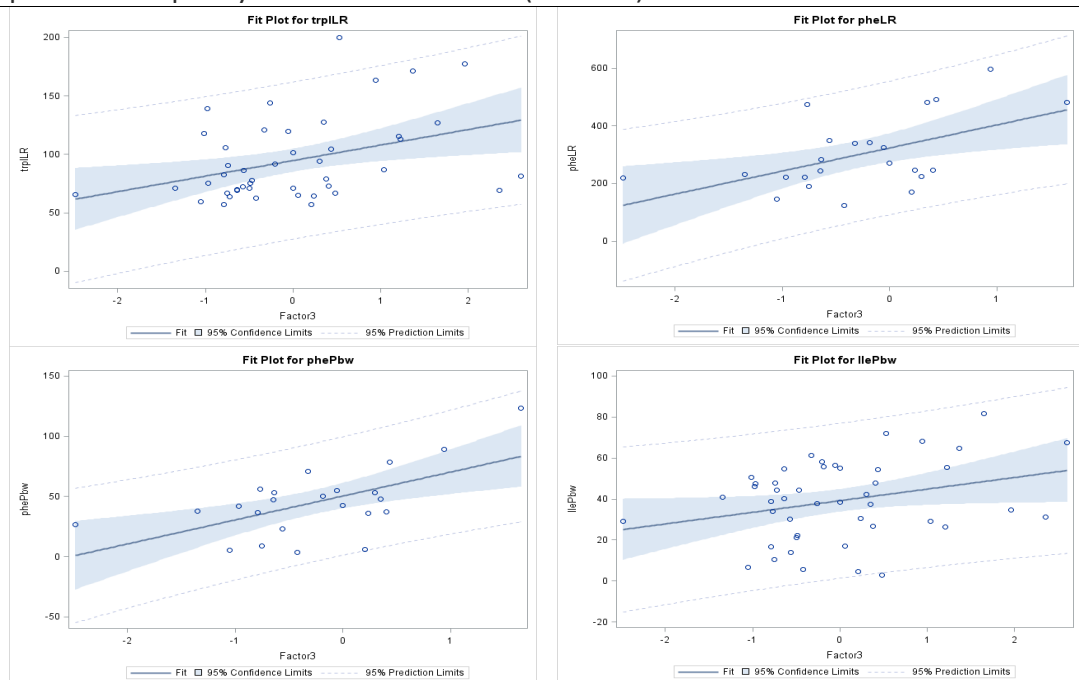
Tabel 6

Clustering van immuunparameters met behulp van Principal Component Analysis (vetgedrukte waarden hebben een hoge correlatie: $\leq -0,40$ of $\geq 0,40$).

Factor ¹	1 Acute fase eiwitten	2 Lymfocyten	3 Innate immuun respons	4 Anti KLH IgM
Haptoglobine	0,88	-0,05	0,00	0,01
C-reactief eiwit	0,71	0,30	0,28	-0,07
Albumine	-0,11	-0,73	-0,07	-0,41
PigMap	0,85	0,13	-0,13	0,06
Lymfocyten	0,11	0,82	-0,08	-0,29
Neutrofielen	0,33	-0,08	0,75	-0,22
Anti KLH titer van IgG	-0,28	0,06	0,78	0,27
Anti KLH titer van IgM	0,03	-0,03	0,01	0,89

¹ De eigenwaarde van elke factor was > 1 . De vier factoren samen verklaarden 75% van de variatie in de waarde van de immuunparameters

Correlations between of factor 3 with ILRs of tryptophan and phenylalanine and with pool sizes of phenylalanine and isoleucine ($P < 0,005$)



Figuur 3 Relatie tussen de innate immuun respons (factor 3) en de ILR van tryptofaan en fenylalanine en de aminozuurpool van fenylalanine en isoleucine.

Nagegaan is of er een relatie is tussen de vier factoren en de aminozuurstofwisseling (ILR en aminozuurpool). Er is geen relatie gevonden tussen de concentratie acute fase eiwitten (factor 1) in het bloed en de aminozuurstofwisseling. Tevens is er geen relatie gevonden tussen de concentratie lymfocyten in het bloed (factor 2) en de aminozuurstofwisseling en de anti KLH IgM respons (factor 4) en de aminozuurstofwisseling. Er is wel een relatie ($p < 0,005$) gevonden tussen factor 3 (innate immuun respons) en de ILR van tryptofaan en fenylalanine en de aminozuurpool van fenylalanine en isoleucine (figuur 3). Bij geen van deze relaties was er sprake van een bedrijfseffect of van een interactie met bedrijf.

3.2.3 Sectieresultaten

Aan het eind van de studie naar de eiwit- en aminozuurstofwisseling zijn de dieren (10 dieren per bedrijf) geëuthanaseerd en ter sectie aangeboden bij de GD. De longen en de darmen zijn visueel beoordeeld door een patholoog en er is bacterieel onderzoek gedaan. De resultaten van deze secties

zijn weergegeven in bijlage 5. Op alle bedrijven zijn bij één of meer dieren longafwijkingen gevonden. Vergrote lymfe knopen zijn op vijf bedrijven bij 6 tot 8 dieren per bedrijf gevonden. Het aantal dieren met darmafwijkingen varieerde tussen 0 en 8 per bedrijf en het aantal dieren met maagzweren tussen 0 en 5. Op vier bedrijven hadden enkele dieren een ontsteking aan het oor als gevolg van de katheters in het oor.

3.3 Stikstofbalans

3.3.1 Stikstofaanzet

De resultaten van de stikstofbalansstudie bij verstrekking van het eiwit adequate en het laag eiwit voer zijn weergegeven in tabel 7. De resultaten van het eiwit adequate en het laag eiwit voer per bedrijf zijn weergegeven in bijlage 6. De dieren die meer dan 10% restvoer hadden in één van de N-balans perioden zijn niet meegenomen in de resultaten. Hierdoor zijn de resultaten van respectievelijk 0, 1, 4, 2, 3, en 5 dieren op bedrijf 1 t/m 6 niet meegenomen.

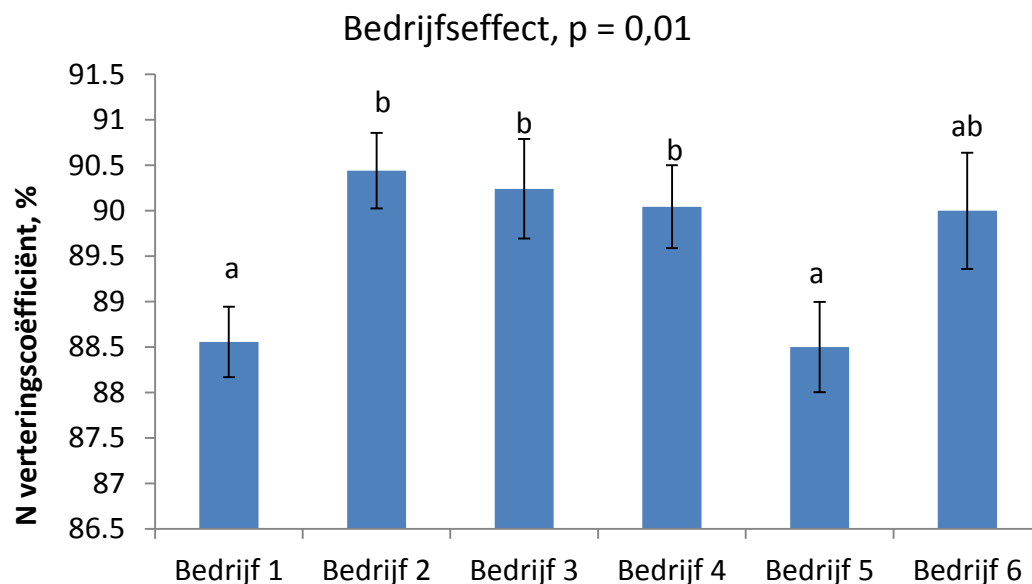
Tabel 7

Effect van eiwitaanbod via het voer (adequaate eiwit of laag eiwit) op de stikstofbalans (in g/kg lichaamsgewicht^{0,75} per dag) bij vleesvarkens van ca. 40 tot 55 kg.

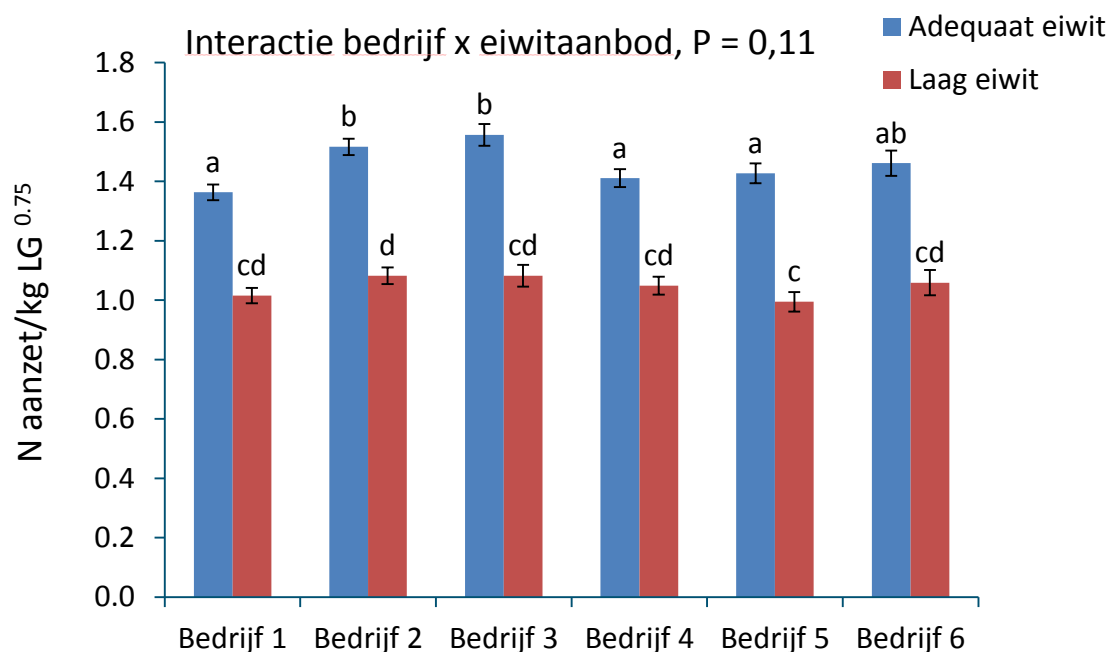
Eiwitaanbod ¹	Adequaate	Laag	SEM ²	P-waarde
Aantal dieren ³	33	33		
Gewicht op dag 7 (kg)	42,6	42,8		
N-opname	2,34	1,71		
N-uitscheiding in mest	0,22	0,19	0,005	0,0007
N-uitscheiding in urine	0,66	0,47	0,012	<0,0001
Verteringscoëfficiënt N (%)	90,7	88,6	0,248	<0,0001
N-aanzet	1,46	1,05	0,014	<0,0001
N-aanzet (% van totale N-opname)	62,3	61,4	0,696	0,15
N-aanzet (% van verteerbare N-opname)	68,7	69,3	0,649	0,37

¹ In het laag eiwit voer waren het eiwit- en de aminozuurgehalten 30% lager dan in het eiwit adequate voer; ² SEM = gepoolde standaard error van het gemiddelde; ³ Dieren die meer dan 10% restvoer hadden op één van de N-balans dagen zijn niet meegenomen in de resultaten. Hierdoor zijn de resultaten van respectievelijk 0, 1, 4, 2, 3, en 5 dieren op bedrijf 1 t/m 6 niet meegenomen

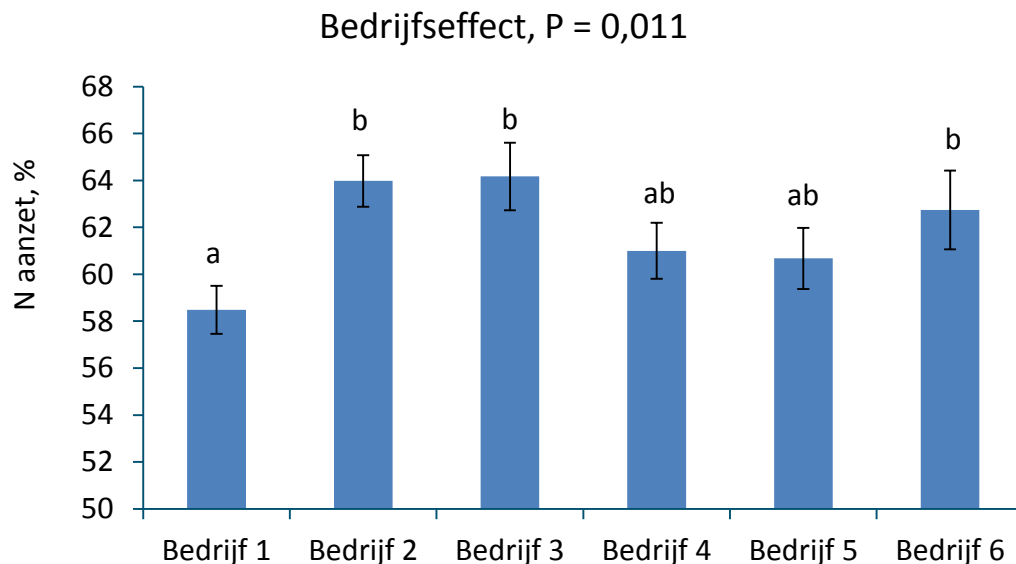
Uit tabel 7 blijkt dat de N-opname op het eiwit adequate 27% hoger was dan op het laag eiwit voer. De N-uitscheiding in de mest en de verteringscoëfficiënt van stikstof waren hoger op het eiwit adequate voer dan op het laag eiwit voer en verschilden significant tussen bedrijven. De verteringscoëfficiënt van stikstof was hoger op de bedrijven 2, 3 en 4 (90,2%) dan op de bedrijven 1 en 5 (88,5%) (zie figuur 4). De N-uitscheiding in de urine was eveneens significant hoger op het eiwit adequate voer dan op het laag eiwit voer maar verschilde niet significant tussen bedrijven ($p = 0,09$). De N-aanzet was hoger op het eiwit adequate voer dan op het laag eiwit voer en verschilde tussen bedrijven. De N-aanzet was hoger op bedrijf 2 en 3 dan op bedrijf 1, 4 en 5 (zie figuur 5). Er was een tendens tot een interactie tussen bedrijf en eiwitaanbod ($p = 0,11$). Dit betekent dat de extra N-aanzet op het eiwit adequate voer t.o.v. het laag eiwit voer verschilde tussen de bedrijven. De marginale N-efficiëntie (verhouding tussen de extra N-aanzet op het eiwit adequate voer t.o.v. het laag eiwit voer en de extra N-opname) was 0,56 op bedrijf 1, 0,68 op bedrijf 2, 0,73 op bedrijf 3, 0,60 op bedrijf 4, 0,67 op bedrijf 5 en 0,63 op bedrijf 6 ($p = 0,14$). De N-aanzet (uitgedrukt als % van de totale N-opname en van de verteerbare N-opname) werd niet beïnvloed door het eiwitaanbod via het voer. Wel was er een verschil tussen bedrijven in de N-aanzet. De N-aanzet (in % van de totale N-opname) was het laagst op bedrijf 1 (58,5%) en het hoogst op de bedrijven 2, 3 en 6 (63,6%) (zie figuur 6).



Figuur 4 Effect van bedrijf op de fecale verteringscoëfficiënt van stikstof bij vleesvarkens van 40 tot 55 kg.



Figuur 5 Effect van bedrijf en eiwitaanbod via het voer op de stikstofaanzet (in kg per lichaamsgewicht^{0,75} per dag) bij vleesvarkens van 40 tot 55 kg.



Figuur 6 Effect van bedrijf op de stikstofaanzet (in % van de totale stikstof opname) bij vleesvarkens van 40 tot 55 kg.

3.3.2 Immuunparameters

In de acht vleesvarkens per bedrijf die geselecteerd waren voor de N-balans studie zijn op dag 7, 15 en 21 bloedmonsters genomen ter bepaling van de gehalten aan acute fase eiwitten, de concentratie witte bloedcellen en de anti KLH IgG en IgM titers. De resultaten van de immuunparameters bij verstrekking van het eiwit adequate en het laag eiwit voer zijn weergegeven in tabel 8. De resultaten van het eiwit adequate en het laag eiwit voer per bedrijf zijn weergegeven in bijlage 7.

Tabel 8

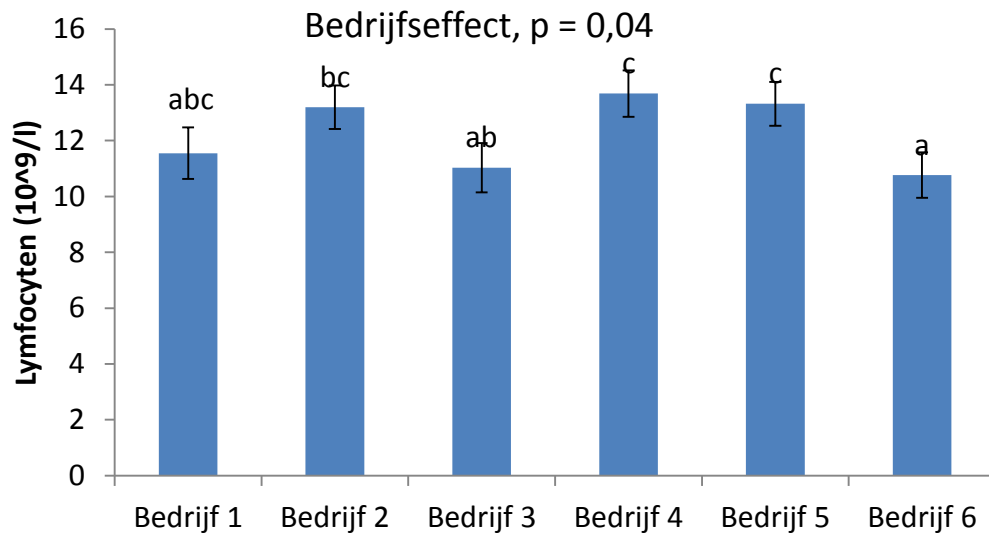
Effect van eiwitaanbod via het voer (adequaat eiwit of laag eiwit) op de concentratie acute fase eiwitten, anti KLH IgG en IgM titers en de concentratie witte bloedcellen gemeten in bloed bij vleesvarkens van 40 tot 55 kg.

Eiwitaanbod ¹	Adequaat	Laag	SEM ²	P-waarde
Haptoglobine (g/l) ³	0,8	0,8	0,09	0,25
Albumine (g/l) ⁴	44,3	44,8	0,77	0,29
C-reactief eiwit (mg/l) ³	266	165	57,9	0,09
PigMAP (mg/l) ³	499	407	54,1	0,09
WBC (10 ⁹ /l) ³	22,3	22,2	0,62	0,85
Neutrofielen (10 ⁹ /l) ³	9,3	9,2	0,42	0,81
Lymfocyten (10 ⁹ /l) ⁴	12,2	12,3	0,38	0,87
Neutrofielen (%) ⁴	41,6	41,1	1,21	0,76
Lymfocyten (%) ⁴	55,0	55,6	1,17	0,70
Anti KLH titer van IgG ⁴	4,28	4,26	0,13	0,76
Anti KLH titer van IgM ⁴	4,51	4,69	0,14	0,20
NAPI ^{3,5}	24,6	17,6	6,73	0,11

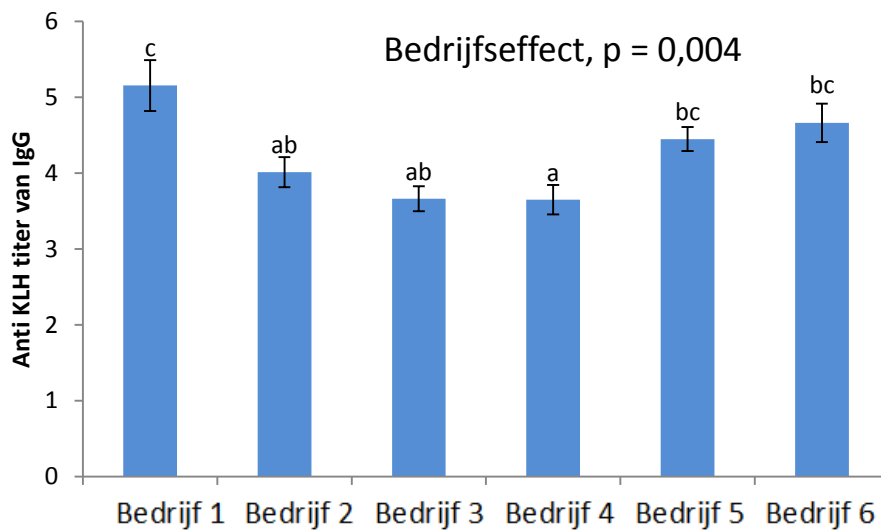
¹ In het laag eiwit voer waren het eiwit- en de aminozuurgehalten 30% lager dan in het eiwit adequate voer; ² SEM = gepoolde standaard error van het gemiddelde; ³ Data zijn weergegeven als mean; ⁴ Data zijn weergegeven als LSM; ⁵ NAPI = nutritionele acute fase index

Uit tabel 8 blijkt dat er geen duidelijk effect was van eiwitgehalte in het voer op de immuunparameters. Wel verschilden de gehalten aan haptoglobine, albumine en PigMAP, de concentratie lymfocyten, het percentage neutrofielen en lymfocyten, de anti KLH titer van IgG en NAPI tussen de bedrijven. Het haptoglobine gehalte in bloed varieerde tussen bedrijven van 0,50 (bedrijf 2 en 5) tot 1,05 g/l (bedrijf 3), het albumine gehalte van 42,0 (bedrijf 1) tot 49,0 g/l (bedrijf 4) en PigMAP van 236 (bedrijf 3) tot 842 mg/l (bedrijf 5). De concentratie lymfocyten varieerde van 10,8 (bedrijf 6) tot 13,7 10⁹/l (bedrijf 4) (zie figuur 7), het percentage lymfocyten van 50,2 (bedrijf 6) tot

59,7% (bedrijf 4) en het percentage neutrofielen van 37,9 (bedrijf 4) tot 45,9% (bedrijf 6). De anti KLH titer van IgG varieerde van 3,65 (bedrijf 4) tot 5,15 (bedrijf 1) (zie figuur 8). NAPI varieerde van 8,0 (bedrijf 4) tot 26,1 (bedrijf 1).



Figuur 7 Effect van bedrijf op de concentratie lymfocyten bij vleesvarkens van ca. 40 tot 55 kg.



Figuur 8 Effect van bedrijf op de anti KLH titer van IgG bij vleesvarkens van ca. 40 tot 55 kg.

3.3.3 Relatie tussen stikstofbalans- en immuunparameters

Nagegaan is of er relaties zijn tussen de gemeten N-balansparameters en immuunparameters. In bijlage 8 zijn de significante relaties beschreven en in figuren weergegeven. Daarnaast is nagegaan of er relaties zijn tussen de immuunparameters en de marginale N-efficiëntie. De immuunparameters zijn geclusterd met behulp van PCA. De resultaten van deze clustering staan in tabel 9. Er zijn drie factoren (clusters van variabelen) gevormd, die onafhankelijk zijn van elkaar. Factor 1 heeft een hoge correlatie met de innate immuun respons, factor 2 met de acute fase eiwitten en factor 3 met de cellulaire immuun respons. De eigenwaarde van elke factor was > 1. De drie factoren samen verklaarden 64% van de variatie in de waarden van de gemeten immuunparameters. Boxplots van de drie factoren per bedrijf en van de marginale N-efficiëntie per bedrijf zijn weergegeven in bijlage 9.

Tabel 9

Clustering van immuunparameters met behulp van Principal Component Analysis (vetgedrukte waarden hebben een hoge correlatie: $\leq -0,40$ or $\geq 0,40$).

Factor ¹	1 Innate immuun repsons	2 Acute fase eiwitten	3 Cellulaire immuun respons
Haptoglobine	0,11	0,82	0,26
C-reactief eiwit	-0,10	0,88	0,00
Albumine	-0,33	-0,22	-0,50
PigMap	0,80	0,28	-0,26
Lymfocyten	0,11	-0,06	0,76
Neutrofielen	-0,11	0,19	0,69
Anti KLH titer van IgG	0,70	-0,20	0,25
Anti KLH titer van IgM	0,82	-0,04	0,13

¹ De eigenwaarde van elke factor was > 1 . De vier factoren samen verklaarden 64% van de variatie in de waarde van de gemeten immuunparameters

Nagegaan is of er een relatie is tussen de drie factoren en de marginale N-efficiëntie in de dieren. Er is geen relatie gevonden tussen de innate immuun respons (factor 1) en de marginale N-efficiëntie en tussen de acute fase eiwitten (factor 2) en de marginale N-efficiëntie. Daarnaast was er geen bedrijfseffect of een interactie met bedrijf voor wat betreft deze relaties. Er is wel een relatie ($p = 0,06$) gevonden tussen factor 3 (cellulaire immuun respons) en de marginale N-efficiëntie (figuur 3). Er was echter ook sprake van een interactie tussen factor 3 en bedrijf voor wat betreft de relatie. Op drie bedrijven was er geen duidelijke relatie tussen factor 3 en de marginale N-efficiëntie, op twee bedrijven was er een negatieve relatie en op één bedrijf een positieve relatie.

4 Discussie

Het doel van deze studie was:

- Nagaan wat de effecten zijn van de gezondheidsstatus op bedrijfsniveau op de technische resultaten, vertering van nutriënten in het voer, mate van activatie van het immuunsysteem en metabolisme van de (semi-) essentiële aminozuren lysine, methionine, cysteïne, threonine, tryptofaan, valine, isoleucine, leucine, fenylalanine, histidine en tyrosine bij vleesvarkens (40-55 kg lichaamsgewicht).
- Nagaan wat het effect is van de gezondheidsstatus van op bedrijfsniveau en van het aanbod aan eiwit en aminozuren via het voer op de eiwitaanzet en eiwitbenutting bij vleesvarkens (40-55 kg lichaamsgewicht).

4.1 Classificatie gezondheidsstatus bedrijven via spinnenwebmethode

De gezondheidsstatus van de vleesvarkens op de zes bedrijven was in kaart gebracht via de spinnenweb methode (Kampman- van der Hoek et al., 2015a). Op basis van de groei van de vleesvarkens, EW-conversie, % uitgevallen dieren, % dieren met pleuritis aan de slachtlijn en % dieren met long- en leverafwijkingen aan de slachtlijn in 2011 en 2012 waren twee bedrijven (bedrijf 1 en 2) geclassificeerd als hoge gezondheidsstatus bedrijf en vier bedrijven (bedrijf 3 t/m 6) als bedrijf met een suboptimale gezondheidsstatus. De verwachting was dat de vleesvarkens op de bedrijven die geclassificeerd waren als hoge gezondheidsstatus bedrijf sneller zouden groeien en een gunstigere voederconversie zouden hebben tijdens het onderzoek dan de vleesvarkens op de bedrijven die geclassificeerd waren als suboptimale gezondheidsstatus bedrijf. Dit bleek echter niet het geval te zijn. Er waren wel significante verschillen in groei en voederconversie tussen de zes bedrijven tijdens het experiment maar deze waren niet gerelateerd aan de classificatie naar gezondheidsstatus van de zes bedrijven. Mogelijk is de meetperiode van twee weken in het onderzoek voor het vaststellen van de zoötechnische prestaties te kort geweest om een relatie te kunnen leggen tussen de technische resultaten gedurende twee weken en de classificatie naar gezondheidsstatus op basis van bedrijfsgegevens over een periode van twee jaar. Kampman- van der Hoek et al. (2015a) geven aan dat bij het in kaart brengen van de gezondheidsstatus van bedrijven via de spinnenwebmethode de gegevens van minimaal een jaar gebruikt moeten worden om een betrouwbare indeling naar gezondheidsstatus te kunnen maken. Het is onder meer bekend dat er seizoensinvloeden kunnen zijn op de incidentie van klinische en subklinische aandoeningen in de praktijk (MacLachlan and Dubovi, 2011). Bij de selectie van de bedrijven is gebruik gemaakt van de bedrijfsgegevens over de jaren 2011 en 2012 terwijl in het onderzoek de technische resultaten slechts zijn gemeten over een korte periode van twee weken in het eerste deel van het groeitraject in één afdeling van de betrokken bedrijven. Incidentele invloeden en (sub)klinische infecties kunnen tijdens deze periode van twee weken een effect hebben gehad op de gemeten technische resultaten. Op geen van de betrokken bedrijven was er tijdens het onderzoek sprake van klinische verschijnselen van ziekte of infectie bij de in het onderzoek betrokken dieren. Mogelijk kunnen echter wel subklinische aandoeningen invloed hebben gehad op de gemeten technische resultaten. Het kan ook zijn dat andere verschillen tussen de zes bedrijven zoals gewicht van de dieren bij de start van het onderzoek, maand/seizoen van meten, hokgrootte en stalklimaat er aan hebben bijgedragen dat er geen relatie is gevonden tussen de technische resultaten gedurende twee weken en de classificatie naar gezondheidsstatus conform het spinnenweb concept.

4.2 Effect van gezondheidsstatus op vertering en immuunsysteem

Op basis van onderzoek van Kampman-van de Hoek et al. (2015b) en literatuuronderzoek van Van der Peet-Schwering en Jansman (2007) werd verwacht dat de verteringscoëfficiënt van stikstof op de hoge gezondheidsstatus bedrijven 2 à 3% hoger zou zijn dan op de bedrijven met een suboptimale gezondheidsstatus. De fecale verteringscoëfficiënt van stikstof in het voer varieerde tussen de zes bedrijven van 78,1 tot 81,2%. Er waren dus wel verschillen in de verteerbaarheid van stikstof tussen de zes bedrijven maar deze verschillen waren niet gerelateerd aan de classificatie naar gezondheidsstatus van de zes bedrijven.

Hetzelfde gold voor de immuunparameters. In diverse onderzoeken zijn lagere gehalten aan acute fase eiwitten, m.n. haptoglobine, (Le Floch et al. 2006; Kampman-van de Hoek et al., 2015b) en een lagere concentratie aan neutrofielen en lymfocyten in het bloed (Kampman-van de Hoek et al., 2015b) gevonden bij vleesvarkens met een hoge gezondheidsstatus. In ons onderzoek verschilden de gehalten aan acute fase eiwitten, de concentratie neutrofielen en lymfocyten en de anti KLH titers van IgG en IgM in bloed tussen de zes bedrijven maar ze waren niet gerelateerd aan de classificatie naar gezondheidsstatus van de zes bedrijven. Mogelijk is, net als bij de technische resultaten, de meetperiode van twee weken te kort geweest om een relatie te kunnen vinden tussen de classificatie naar gezondheidsstatus van de zes bedrijven en de verteerbaarheid van stikstof in het voer en de gemeten immuunparameters. Incidentele subklinische infecties tijdens deze twee weken kunnen een effect hebben gehad op de verteerbaarheid van stikstof in het voer en op de immuunparameters. Zoals reeds aangegeven, hadden de dieren tijdens het experiment geen klinische verschijnselen van ziekte of infectie maar tijdens secties op een tiental dieren na afloop van de metingen ten aanzien van het N- en aminozuur metabolisme bleek dat op alle bedrijven één of meer dieren longafwijkingen hadden. Daarnaast hadden op vier bedrijven van de tien dieren die aan sectie werden onderworpen één of meer dieren darmafwijkingen en een ontsteking aan het oor. Mogelijk is er dus op alle bedrijven sprake geweest van subklinische infecties bij de dieren die in het onderzoek betrokken waren. Dit wordt bevestigd door de gehalten aan acute fase eiwitten die gemeten zijn bij de dieren op de zes bedrijven tijdens de onderzoeksperiode. De gehalten aan PigMap, C-reactief eiwit en haptoglobine in het bloed komen op alle bedrijven wat niveau betreft overeen met de waarden zoals gemeten door Kampman-van de Hoek et al. (2015) bij dieren met een geactiveerd immuunsysteem als gevolg van een opgelegde gestandaardiseerde immuun challenge. Subklinische infecties bij één of meerdere dieren per bedrijf (ook op de bedrijven die geclassificeerd waren als hoge gezondheidsstatus bedrijf) zijn mogelijk de reden waarom er op bedrijfsniveau geen relatie is gevonden tussen de N-vertering en immuun parameters en de classificatie naar gezondheidsstatus. Daarnaast kan het ook zijn dat andere verschillen tussen de zes bedrijven zoals seizoen van meten, hokgrootte en afdelingsklimaat er aan hebben bijgedragen dat er geen significante relaties zijn gevonden tussen de classificatie van bedrijven naar gezondheidsstatus en de gemeten N-vertering van het voer en de immuun parameters tijdens de periode van het onderzoek.

Er is wel een negatieve relatie gevonden tussen de groei van de vleesvarkens en de gehalten aan de acute fase eiwitten C-reactief eiwit en PigMap in het bloed en een positieve relatie tussen de voederconversie en de concentratie PigMap in bloed. Er lijkt dus wel een relatie te zijn tussen de technische resultaten en de gehalten aan acute fase eiwitten in bloed. Bij een hoger gehalte aan C-reactief eiwit en PigMap is de groei van de vleesvarkens lager en de voederconversie ongunstiger. Dit komt overeen met de resultaten uit een meta-analyse uitgevoerd door Pastorelli et al. (2012) en met de resultaten gevonden door Williams et al. (1997b). Hieruit bleek dat de groei en voeropname lager zijn bij vleesvarkens met een geactiveerd immuunsysteem.

4.3 Effect van gezondheidsstatus op aminozuur metabolisme

Bij dieren met een geactiveerd immuunsysteem zijn extra aminozuren nodig voor de productie van acute fase eiwitten en immuunglobulinen. Hierdoor kan de aanzet van spiereiwit afnemen en de afbraak van spiereiwit toenemen. Gezien het verschil in aminozuursamenstelling tussen lichaamseiwit,

acute fase eiwitten en immuunglobulinen verandert mogelijk de benutting van aminozuren uit het voer bij dieren met een geactiveerd immuunsysteem. Om hier meer inzicht in te krijgen zijn bij tien dieren per bedrijf (één dier per hok) metingen gedaan naar de aminozuurstofwisseling. Bij deze dieren is de Irreversible Loss Rate (ILR) en de plasma poolgrootte van de aminozuren isoleucine, leucine, valine, lysine, tyrosine, tryptofaan, methionine en fenylalanine bepaald. De ILR van een aminozuur is een flux en wordt vastgesteld als de hoeveelheid van een aminozuur die per kg lichaamsgewicht per uur verdwijnt uit de aminozuurpool in het bloedplasma voor ofwel eiwitsynthese in het lichaam dan wel voor oxidatie in het metabolisme in weefsels en organen. Bij het bepalen van de ILR van aminozuren kan geen onderscheid gemaakt tussen het gebruik van aminozuren voor respectievelijk eiwitsynthese of oxidatie. De ILR van isoleucine, leucine, valine, lysine en tyrosine verschilden niet tussen de zes bedrijven. De ILR van tryptofaan was echter hoger op bedrijf 1 en 4 dan op bedrijf 2, 5 en 6. De ILR van methionine en fenylalanine zijn alleen gemeten op bedrijf 1, 5 en 6 en waren hoger op bedrijf 1 dan op de twee andere bedrijven. Dit suggereert dat op bedrijf 1 meer tryptofaan, methionine en fenylalanine is gebruikt voor eiwitsynthese en/of oxidatie. Omdat bedrijf 1 een hoge gezondheidsstatus had conform het spinnenweb concept zou de hogere ILR het gevolg kunnen zijn van een hogere aanzet van spiereiwit. Echter, de stikstofaanzet (in % van de totale stikstof opname) was op bedrijf 1 echter lager dan op bedrijf 2, 3 en 6. De eiwitsynthese ten behoeve van het immuunsysteem was op bedrijf 1 mogelijk wel hoger. De concentratie acute fase eiwit PigMap en de anti KLH titer van IgG waren namelijk het hoogst op bedrijf 1. De hogere ILR op bedrijf 1 kan ook het gevolg zijn van een hogere oxidatie van tryptofaan, methionine en fenylalanine. Mogelijk was er een grotere onbalans in het aanbod van essentiële aminozuren via het voer als gevolg van een meer geactiveerd immuunsysteem van de dieren in het onderzoek op dit bedrijf resulterend in een hogere oxidatie van aminozuren.

Om na te gaan of er relaties zijn tussen de gemeten immuun parameters en de aminozuurstofwisseling (ILR en poolgrootte) zijn de immuun parameters met behulp van PCA geclusterd tot vier factoren. Bij PCA wordt niet alleen gebruik gemaakt van de variatie in gemeten waarden tussen bedrijven maar ook van de variatie in waarden binnen bedrijven. Factor 1 had een hoge correlatie met de concentraties acute fase eiwitten in bloed, factor 2 met de bloedconcentratie lymfocyten, factor 3 met de innate immuun respons en factor 4 met de anti KLH titer van IgM. Er was geen relatie tussen factor 1 (de acute fase eiwitten) en de ILR en poolgrootte in bloedplasma van de in het onderzoek gemeten aminozuren. Dit betekent dat er in het onderzoek op de praktijkbedrijven geen aanwijzingen zijn gevonden dat bij klinisch gezonde dieren met een verhoogd gehalte aan acute fase eiwitten (en een geactiveerd immuunsysteem) een verhoogde aminozuurstofwisseling hebben. Reeds et al. (1994) en Kampman-van de Hoek (2015) gaven aan dat bij activatie van het immuunsysteem en bij verhoging van de productie van acute fase eiwitten, de aminozuren fenylalanine en tryptofaan deficiënt kunnen worden als gevolg van hun relatief hoge aandeel in acute fase eiwitten. In ons onderzoek en ook in het onderzoek van Kampman-van de Hoek et al. (2015b) resulteerde een verhoging van de productie van acute fase eiwitten echter niet in een hogere ILR en poolgrootte van verschillende essentiële aminozuren. Mogelijk is er bij activatie van het immuunsysteem sprake van twee tegengestelde effecten: enerzijds een verlaging van de eiwitsynthese als gevolg van een lagere eiwitaanzet en anderzijds verhoging van de eiwitsynthese t.b.v. de productie van acute fase eiwitten en andere bij het immuunsysteem betrokken eiwitten en verhoging van de oxidatie van aminozuren als gevolg van een geactiveerd immuunsysteem, samenhangend met een metabole onbalans van aminozuren. Deze twee tegengestelde effecten heffen elkaar mogelijk deels op waardoor er geen netto effect op de ILR van aminozuren wordt vastgesteld. Tevens zou het kunnen zijn dat de kosten voor de productie van acute fase eiwitten relatief klein zijn bij klinisch gezonde dieren, overeenkomend met de klinische gezondheidsstatus van dieren zoals gebruikt in het hier beschreven onderzoek op praktijkbedrijven.

Er was wel een positieve relatie tussen factor 3 (innate immuun respons) en de ILR van tryptofaan en fenylalanine en de poolgrootte in bloedplasma van fenylalanine en isoleucine. De betekenis en achtergronden van deze relatie zijn niet duidelijk en moeten nader worden onderzocht. Mogelijk hadden een aantal dieren in het onderzoek een subklinische infectie en was de concentratie neutrofiele witte bloedcellen en de anti KLH titer van IgG verhoogd bij deze dieren. Bij een subklinische infectie zijn er extra aminozuren nodig voor o.a. de productie van immuunglobulinen en voor herstel van

weefselschade en is er sprake van een verhoogde eiwitturnover. Dit verklaart mogelijk de positieve relatie tussen factor 3 en de ILR van tryptofaan en fenylalanine.

4.4 Effect van gezondheidsstatus op eiwitaanzet en eiwitbenutting

Uit diverse proeven is gebleken dat dieren met een geactiveerd immuunsysteem minder eiwit aanzetten dan dieren met een niet geactiveerd immuunsysteem (Webel et al., 1998; Rakhshandeh et al., 2014). Bij dieren met een geactiveerd immuunsysteem is er competitie tussen het gebruik van aminozuren voor lichaamseiwitaanzet en voor het goed functioneren van het immuunsysteem. Dit kan ten koste gaan van de aanzet van lichaamseiwit (Klasing et al., 1991; Sandberg et al., 2007). De verwachting was daarom dat de vleesvarkens op de bedrijven met een hoge gezondheidsstatus meer eiwit zouden aanzetten dan de vleesvarkens op de bedrijven met een suboptimale gezondheidsstatus. Dit bleek echter niet het geval te zijn. Er waren wel verschillen in eiwitaanzet tussen de zes bedrijven maar deze waren niet gerelateerd aan de classificatie naar gezondheidsstatus van de zes bedrijven. Ook hier geldt dat de meetperiode van twee weken mogelijk te kort is geweest om een effect van bedrijfsgezondheidsstatus op de stikstofaanzet te kunnen meten. Ook kunnen (incidentele) subklinische infecties tijdens deze twee weken een rol hebben gespeeld. Bij een subklinische infectie zijn er extra aminozuren nodig voor o.a. de productie van immuunglobulinen en acute fase eiwitten en voor herstel van weefselschade. De dieren op bedrijf 1 (bedrijf met een hoge gezondheidsstatus) hadden het hoogste gehalte aan acute fase eiwit PigMap en de hoogste anti KLH IgG titer. Dit suggereert dat de dieren op bedrijf 1 een geactiveerd immuunsysteem hadden en dit heeft mogelijk geresulteerd in een lagere eiwitaanzet dan verwacht.

Tijdens de balansstudie kregen de dieren een eiwit adequaat voer of een laag eiwit voer. De verwachting was dat de verstrekking van het laag eiwit voer zou leiden tot een lagere N-aanzet. Dat bleek inderdaad het geval. De N-opname, verteringscoëfficiënt van stikstof, de N-uitscheiding in de urine en de N-aanzet waren lager op het laag eiwit voer. Deze resultaten werden op alle 6 bedrijven (zowel de bedrijven met een hoge als suboptimale gezondheidsstatus) gevonden. De marginale N-efficiëntie (verhouding tussen extra N-aanzet op het eiwit adequate voer t.o.v. het laag eiwit voer en de extra N-opname) verschilde eveneens numeriek tussen de zes bedrijven ($p = 0,14$). De marginale N-efficiëntie was 0,54 op bedrijf 1, 0,69 op bedrijf 2, 0,73 op bedrijf 3, 0,61 op bedrijf 4, 0,69 op bedrijf 5 en 0,63 op bedrijf 6. Kampman- van de Hoek et al. (2015) gaven vleesvarkens voor en na immuun challenge met CFA een adequaat eiwit voer of een laag eiwit voer. Voor challenge was de marginale N-efficiëntie 0,64. Na challenge was de marginale N-efficiëntie 0,47. Na challenge met CFA hadden de dieren een geactiveerd immuunsysteem en was de marginale N-efficiëntie duidelijk lager dan voor challenge. In het huidige onderzoek was de marginale N-efficiëntie het laagst op bedrijf 1. Dit suggereert dat de dieren op bedrijf 1 (bedrijf met hoge gezondheidsstatus) een geactiveerd immuunsysteem hadden tijdens het onderzoek. Het hoge gehalte aan PigMap en de hoge anti KLH IgG titer bij de dieren op dit bedrijf ondersteunen dit.

Een beperking van het aanbod aan essentiële aminozuren in het voer kan bij dieren met een lage gezondheidsstatus de concentraties acute fase eiwitten in het bloed negatief beïnvloeden (Kampman- van de Hoek et al., 2015). Zij gaven aan dat het vermogen om immunologisch goed te kunnen reageren mede beïnvloed lijkt te worden door een voldoende voorziening van aminozuren (methionine en cysteine, threonine en tryptofaan) via het voer. In het hier beschreven onderzoek was er geen effect van eiwitaanbod via het voer op de gehalten aan haptoglobine en albumine in het bloed. De gehalten aan C-reactief eiwit en PigMap tendeerden echter wel naar lagere waarden ($p = 0,09$) bij het laag eiwit voer. Dit gold zowel voor de bedrijven met een hoge als een lage gezondheidsstatus. Een laag aanbod van eiwit via het voer lijkt dus inderdaad een negatief effect te hebben op de concentraties aan C-reactief eiwit en PigMap in het bloed.

4.5 Conclusies

De belangrijkste conclusies uit het onderzoek zijn:

- Er waren significante verschillen in groei en voederconversie tussen de zes bedrijven tijdens het experiment maar deze waren niet gerelateerd aan de classificatie naar gezondheidsstatus van de zes bedrijven, zoals bepaald volgens het spinnenweb concept. De meetperiode van twee weken tijdens het experiment is mogelijk te kort geweest om een relatie te kunnen leggen tussen de technische resultaten gedurende twee weken en de classificatie naar gezondheidsstatus op basis van gegevens over een periode van twee jaar.
- De verteerbaarheid van stikstof in het voer, de N-aanzet en de marginale N-efficiëntie (verhouding tussen extra N-aanzet op het eiwit adequate voer t.o.v. het laag eiwit voer en de extra N-opname) verschilden significant tussen de zes bedrijven. Ook de gemeten immuunparameters (gehalten aan acute fase eiwitten, concentratie neutrofielen en lymfocyten en de anti KLH titers van IgG en IgM in bloed) verschilden tussen de zes bedrijven. Deze verschillen tussen de bedrijven waren echter niet gerelateerd aan de classificatie naar gezondheidsstatus van de zes bedrijven. Subklinische infecties bij één of meerdere in het onderzoek betrokken dieren per bedrijf, inclusief de bedrijven die geclassificeerd waren als hoge gezondheidsstatus bedrijf, zijn mogelijk een oorzaak waarom er op bedrijfsniveau geen relaties zijn gevonden tussen de gemeten stikstof- en immuunparameters en de classificatie naar gezondheidsstatus op bedrijfsniveau.
- Er was een negatieve relatie tussen de groei van de vleesvarkens en de gehalten aan de acute fase eiwitten C-reactief eiwit en PigMap in het bloed. Overige geanalyseerde relaties tussen de technische resultaten en immuunparameters van de dieren in het onderzoek waren niet significant.
- Met behulp van Principal Component Analysis (PCA) zijn de immuunparameters geclusterd. Er was geen relatie tussen de concentratie aan acute fase eiwitten in het bloed en de zogenaamde "irreversible loss rate" (ILR; maat voor de verdwijning van vrije aminozuren uit het bloed voor eiwitsynthese of oxidatie) en de grootte van de plasma pool van gemeten essentiële aminozuren. Dit betekent dat er in het uitgevoerde onderzoek met klinisch gezonde dieren op praktijkbedrijven geen aanwijzingen zijn gevonden dat dieren met een verhoogd gehalte aan acute fase eiwitten een verhoogde aminozuurstofwisseling en/of -behoefte hebben. Mogelijk zijn de kosten wat betreft essentiële aminozuren voor de productie van acute fase eiwitten relatief gering bij dieren die geen klinische verschijnselen van een ziekte of infectie vertonen.
- De resultaten lieten een positieve relatie zien tussen de parameters van het aangeboren (innate) immuun systeem en de ILR van tryptofaan en fenylalanine en de poolgrootte van fenylalanine en isoleucine in bloedplasma. De betekenis van deze relatie is niet helemaal duidelijk en dient verder onderzocht te worden.
- Er is geen relatie gevonden tussen de concentratie van acute fase eiwitten in het bloed en de marginale N-efficiëntie en tussen het aangeboren immuunsysteem en de N-efficiëntie.

Literatuur

- CVB. 2012. Tabellenboek Veevoeding 2012. Voedernormen landbouwhuisdieren en voederwaarde veevoerders. CVB-reeks nr. 50.
- Holtrop G., Lapiere, H. and Lobley, G.E., 2004. Modelling transport of amino acids into the red blood cells of sheep. *Journal of Agricultural Science*, 142, 577-588.
- Kampman-van de Hoek, E., Gerrits, W.J.J., Borne, J.J.G.C. van den, Peet-Schwering, C.M.C. van der and Jansman, A.J.M. 2013. Amino acid requirements of growing-finishing pigs with a different health status. In: *Proceedings of the Wias Science Day 2013, 28 Februari 2013, Wageningen, the Netherlands. - Wageningen : Wias Science Day, 2013 - p. 9 - 9.*
- Kampman-van de Hoek. 2015. Impact of health status on amino acid requirements of growing pigs. Towards feeding strategies for farms differing in health status. PhD thesis, Wageningen University, Wageningen.
- Kampman-van de Hoek, E., Jansman, A.J.M., Van den Borne, J.J.G.C., Van der Peet-Schwering, C.M.C., Van Beers-Schreurs, H. and Gerrits, W.J.J., 2015b. Dietary amino acid deficiency reduces the utilization of amino acids for growth in growing pigs following a period of low health as characterised by serum antibody presence and hygienic environment. Accepted *Journal of Nutrition*.
- Kampman-van de Hoek, E., Sakkas, P., Gerrits, W.J.J., Van den Borne, J.J.G.C., Van der Peet-Schwering, C.M.C. and Jansman, A.J.M., 2015. Induced lung inflammation and dietary protein supply affect N retention and amino acid metabolism in growing pigs. *British Journal of Nutrition*, 113, 3, 414-425.
- Kampman-van de Hoek, E., Sakkas, P., Gerrits, W.J.J., Van Beers-Schreurs, H., Van der Peet-Schwering, C.M.C., Van den Borne, J.J.G.C. and Jansman, A.J.M., 2015a. A novel scoring system for the classification of the health status of growing-finishing pig farms. Submitted.
- Klasing, K.C. and Johnstone, B.J., 1991. Monokines in growth and development. *Poultry Science*, 70, 1781-1789.
- Le Floc'h, N., Lebellego, L., Matte, J.J., Melchior, D., Seve, B., 2009. The effect of sanitary status degradation and dietary tryptophan content on growth rate and tryptophan metabolism in weaning pigs. *Journal of Animal Science*, 87, 1686-1694.
- Le Floc'h, N., Melchior, D., Seve, B., 2008. Dietary tryptophan helps to preserve tryptophan homeostasis in pigs suffering from lung inflammation. *Journal of Animal Science*, 86, 3473-3479.
- MacLachlan, N.J. and E.J. Dubovi (editors). 2011. Epidemiology and control of viral diseases. In: *Fenner's veterinary virology*, 4th ed., 136, Academic Press, London, UK.
- Pastorelli, H., Van Milgen, J., Lovatto, P. and Montagne, L., 2012. Meta-analysis of feed intake and growth responses of growing pigs after a sanitary challenge. *Animal*, 6, 952-961.
- Peet-Schwering, C.M.C. van der en Jansman, A.J.M., 2007. Nutriëntenbehoefte van varkens onder suboptimale omstandigheden. Vertrouwelijk rapport 68, Animal Sciences Group, Wageningen UR, Wageningen.
- Rakhshandeh, A., J.K. Htoo, N. Karrow, S.P. Miller and C.F.M. de Lange , 2014. Impact of immune system stimulation on the ileal nutrient digestibility and utilisation of methionine plus cysteine intake for whole-body protein deposition in growing pigs. *British Journal of Nutrition*, 111, 101-110.
- Reeds, P.J., Fjeld, C.R. and Jahoor, F., 1994. Do the differences between the amino acid composition of acute phase proteins and muscle protein have a bearing on nitrogen loss in traumatic states? *Journal of Nutrition*, 128, 1355-1360.
- Sandberg, F.B., Emmans G.C. and Kyriazakis, I., 2007. The effects of pathogen challenges on the performance of naïve and immune animals: the problem of prediction. *Animal*, 1, 67-86.
- Webel, D.M., Johnson, R.W. and Baker, D.H., 1998. Lipopolysaccharide-induced reductions in food intake do not decrease the efficiency of lysine and threonine utilization for protein accretion in chickens. *Journal of Nutrition*, 128, 1760-1766.

-
- Williams, N.H., Stahly, T.S., Zimmerman, D.R., 1997a. Effect of chronic immune system activation on the rate, efficiency, and composition of growth and lysine needs of pigs fed from 6 to 27 kg. *Journal of Animal Science*, 75, 2463-2471.
- Williams, N.H., Stahly, T.S., Zimmerman, D.R., 1997b. Effect of level of chronic immune system activation on the growth and dietary lysine needs of pigs fed from 6 to 112 kg. *Journal of Animal Science*, 75, 2481-2496.

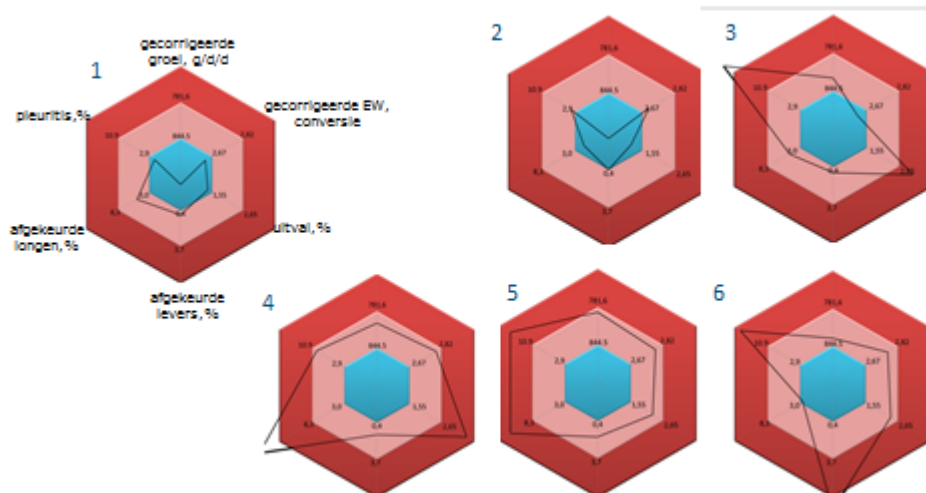
Bijlage 1 Selectie van 6 praktijkbedrijven

Blauw: hoge gezondheidsstatus

Roze: conventionele gezondheidsstatus

Rood: suboptimale gezondheidsstatus

Selectie van 6 praktijkbedrijven, spinnenweb



Bijlage 2 Grondstoffen- en nutriënten-samenstelling proefvoer

Grondstoffen (%)		
Gerst		30
Tarwe		30
Mais		8,84
Sojaschroot		17,2
Tarwegries		5,0
Rietmelasse		3,0
Sojaolie		2,3
Calcium-formiaat		1,0
Krijt		0,53
Monocalcium fosfaat		0,26
NaCl		0,27
Fytase		0,01
Premix		0,74
L-Lysine HCL		0,37
DL-methionine		0,11
L-threonine		0,11
L-tryptofaan		0,02
Titanium dioxide		0,25
Berekende gehalten (geanalyseerde gehalten)		
Droge stof	g	872 (882)
Ruw as	g	49 (47)
Ruw eiwit	g	170 (172)
Ruw vet	g	48
Ruwe celstof	g	33
Zetmeel + suiker	g	434
NSP	g	183
EW	-	1,09
NEv	MJ	9,6
Ca	g	7,2
P	g	4,5
vP	g	2,5
K	g	8,8
Na	g	1,2
Cl	g	3,4
S	g	1,6
schDVLYSv	g	9,3
schDVMETv	g	3,2
schDVM+Cv	g	5,6
schDVTHRv	g	5,5
schDVTRPv	g	1,8
schDVILEv	g	5,4
schDVARGv	g	9,1
schDVPHEv	g	6,9
schDVHISv	g	3,5
schDVLEUv	g	10,2
schDVTYRv	g	4,6
schDVVALv	g	6,2

Bijlage 3 Grondstoffen- en nutriënten-samenstelling eiwit adequaat en laag eiwit voer

	Eiwit adequaat voer	Laag eiwit voer
Grondstoffensamenstelling, g/kg		
Basisvoer*		
Tarwezetmeel	250,0	265,2
Natief aardappelzetmeel	240,1	254,7
haverdoppen	100,0	106,1
Dextrose	100,0	106,1
Bietenpulp	50,0	53,0
Soja olie	25,1	26,6
Krijt	15,5	16,4
Monocalciumfosfaat	12,1	12,8
Kaliumcarbonaat	5,1	5,4
Zout (NaCl)	3,9	4,2
Arbocel	3,0	3,2
Titanium dioxide	2,5	2,7
Vitamin and mineral premix†	2,0	2,1
Eiwitbronnen		
Soja isolaat	90,0	66,8
Caseine	65,0	48,2
Tarweglutenmeel	29,7	22,1
Protastar	5,3	3,9
DL-Methionine	0,9	0,6
Berekende gehalten, g/kg‡		
Droge stof	924	923
EW	1,20	1,21
Ruw eiwit	170	129
Ruw as	53	54
Ruw vet	31	32
Ruwe celstof	40	42
AID Lys	9,2	6,9
AID Met	3,9	2,9
AID Met + Cys	5,5	4,1
AID Thr	5,5	4,1
AID Trp	1,8	1,3
AID Ile	7,2	5,4
AID His	4,1	3,1
AID Leu	13,1	9,8
AID Phe	8,1	6,1
AID Val	8,1	6,0
Geanalyseerde gehalten, g/kg		
Ruw eiwit	182	137
Totaal Lys	11,2	8,5
Totaal Met	4,1	3,0
Totaal Met + Cys	5,8	4,4
Totaal Thr	6,7	5,2
Totaal Trp	2,0	1,6
Totaal Ile	8,2	6,3
Totaal His	4,6	3,6
Totaal Leu	14,9	11,4
Totaal Phe	9,2	7,1
Totaal Val	9,7	7,4

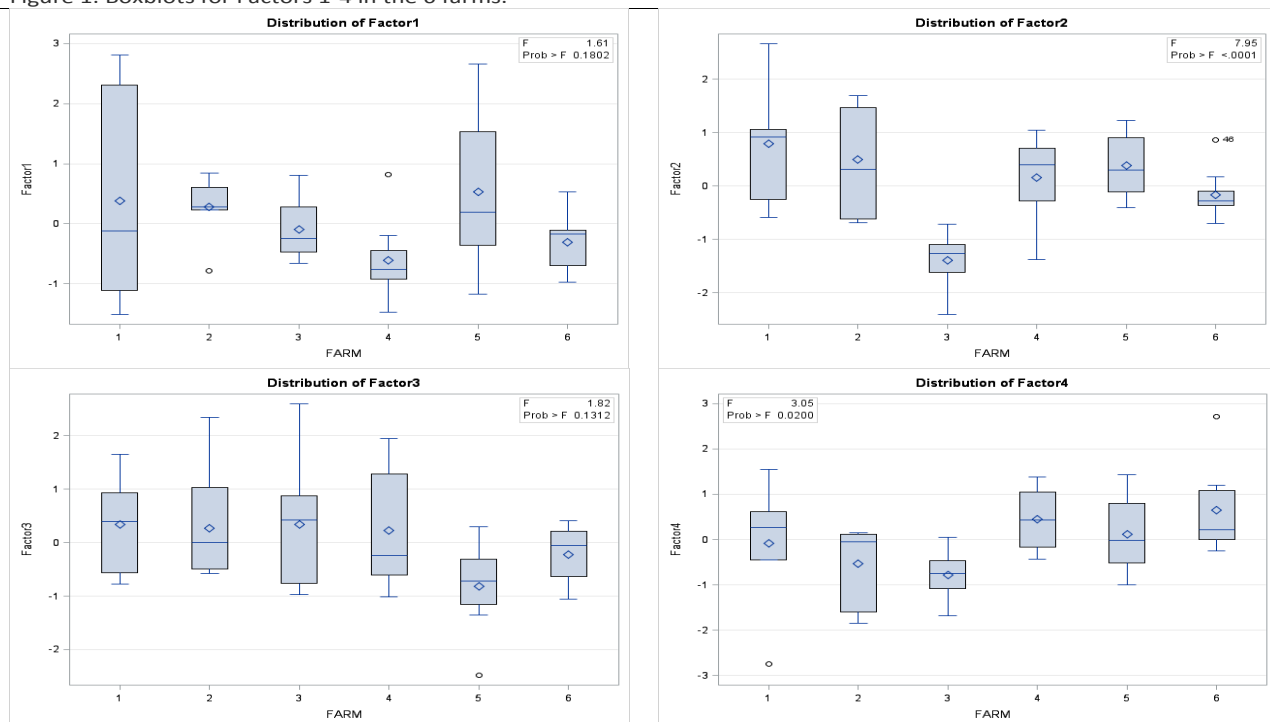
*In het laag eiwit voer waren het eiwit- en de aminozuurgehalten 30% lager dan in het eiwit adequate voer. De overige nutriëntengehalten waren vergelijkbaar in de twee voeders. Het eiwit adequate voer bestond uit een basisvoer waaraan een aantal eiwitbronnen waren toegevoegd. Het laag eiwit voer bestond uit hetzelfde basisvoer met daaraan toegevoegd 70% van de hoeveelheid van de eiwitbronnen zoals opgenomen in het adequate voer.

†Om alle varkens dezelfde hoeveelheid basisvoer te verstrekken (gebaseerd op metabool gewicht) kregen de vleesvarkens op het laag eiwit voer 94,3% van de hoeveelheid die de varkens op het eiwit adequate voer kregen.

Bijlage 4 Immuun parameters per bedrijf

In onderstaand figuur zijn boxplots van vier, m.b.v. PCA gegenereerde, immuun factoren per bedrijf weergegeven. Factor 1 heeft een hoge correlatie met de concentratie acute fase eiwitten in bloed, factor 2 met de concentratie lymfocyten in bloed, factor 3 met de respons van het aangeboren immuun systeem en factor 4 met de anti KLH IgM titer.

Figure 1. Boxblots for Factors 1-4 in the 6 farms.



Bijlage 5 Sectieresultaten

Sectieresultaten van de 10 vleesvarkens per bedrijf die geselecteerd waren voor de studie naar de eiwit- en aminozuurstofwisseling (per kenmerk is het aantal dieren weergegeven).

Bedrijf ¹	1	2	3	4	5	6
Longafwijkingen ²	3	1	3	2	2	4
Pericarditis	3	0	2	0	0	2
Darmafwijkingen ³	1	1	0	8	2	0
Maagzweren	5	5	2	0	3	0
Vergrote lymfe knopen	6	8	7	8	6	0
Ontstekingen oor (t.g.v. katheter)	3	5	0	0	3	2
Bacteriologisch onderzoek longen ⁴						
- Staphylococcus aureus	1					
- Streptococcus ssp.	1					
- truepenella pyogenes	2					
- E. Coli	2					
Bacteriologisch onderzoek darmen ⁴						
- clostridium			3	3		
- gram negatieve bacteriën			3	2		
- gram positieve bacteriën			3	2		
- haemolitische E. Coli				5		
- Lawsonia intracellularis		1			5	

¹ Bedrijf 1 en 2 waren vooraf geclassificeerd als hoge gezondheidsstatus bedrijf en bedrijf 3, 4, 5 en 6 als suboptimale gezondheidsstatus bedrijf

² longafwijkingen: lokaal ontstekingsgebied, longontsteking, pleuritis en necrose

³ darmafwijkingen: diarree en toename doorbloeding darmweefsel

⁴ Bacteriologisch onderzoek op long- en darmweefsel: alleen als er op basis van de long- en darmafwijkingen aanleiding toe was

Bijlage 6 Resultaten balansstudie

Effect van eiwitaanbod via het voer (adequaat eiwit of laag eiwit) op de stikstofbalans (in g/kg lichaamsgewicht^{0,75} per dag) bij vleesvarkens van ca. 40 tot 55 kg.

Eiwitaanbod ¹	Adequaat eiwit						Laag eiwit						SEM ²	P-waarde		
Bedrijf	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6		bedrijf	eiwit	bedrijf x eiwit
Aantal dieren ³	8	7	4	6	5	3	8	7	4	6	5	3				
Gewicht op dag 7 (kg)	45,8	40,2	40,9	40,6	44,0	44,2	46,0	40,8	40,7	39,0	45,5	44,5				
N-opname	2,35	2,35	2,38	2,31	2,31	2,32	1,72	1,71	1,72	1,72	1,67	1,69	0,02	0,07	<0,0001	0,82
N-uitscheiding in mest	0,24	0,19	0,21	0,21	0,24	0,22	0,22	0,18	0,18	0,19	0,21	0,18	0,01	0,02	0,0007	0,85
N-uitscheiding in urine	0,75	0,63	0,61	0,70	0,64	0,64	0,49	0,44	0,46	0,48	0,46	0,45	0,03	0,09	<0,0001	0,04
N-aanzet	1,36	1,52	1,56	1,41	1,43	1,46	1,02	1,08	1,08	1,05	0,99	1,06	0,03	0,008	<0,0001	0,11
Verteringscoëfficiënt N (%)	89,8	91,7	91,2	91,0	89,6	90,7	87,3	89,2	89,3	89,1	87,4	89,3	0,60	0,01	<0,0001	0,84
N-aanzet (% van totale N-opname)	58,0	64,6	65,5	60,9	61,7	63,0	58,9	63,3	62,8	61,0	59,6	62,5	1,53	0,01	0,15	0,51
N-aanzet (% van verteerbare N-opname)	64,6	70,5	71,9	67,0	68,9	69,5	67,5	71,0	70,3	68,6	68,2	69,9	1,60	0,07	0,37	0,21

¹ In het laag eiwit voer waren het eiwit- en de aminozuurgehalten 30% lager dan in het eiwit adequate voer

² SEM = gepoolde standaard error van het gemiddelde

³ Dieren die meer dan 10% restvoer hadden op één van de N-balans dagen zijn niet meegenomen in de resultaten. Hierdoor zijn de resultaten van respectievelijk 0, 1, 4, 2, 3, en 5 dieren op bedrijf 1 t/m 6 niet meegenomen

Bijlage 7 Effect eiwitaanbod op immuunparameters

Effect van eiwitaanbod via het voer (adequaat eiwit of laag eiwit) op de acute fase eiwitten, anti KLH IgG en IgM titers en het aantal witte bloedcellen gemeten in bloed bij vleesvarkens van ca. 40 tot 55 kg.

Eiwitaanbod ¹	Adequaat eiwit						Laag eiwit						SEM ²	P-waarde		
Bedrijf	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6		bedrijf	eiwit	bedrijf x eiwit
Haptoglobine (g/l) ⁴	0,8	0,6	1,1	0,5	0,8	1,1	1,2	0,4	1,0	1,1	0,3	0,8	0,2	0,09	0,25	0,66
Albumine (g/l) ⁴	41,7	42,5	45,4	49,5	43,0	43,4	42,4	43,0	46,7	48,5	44,5	43,4	0,96	<0,0001	0,29	0,64
C-reactief eiwit (mg/l) ³	361	371	130	54	246	483	301	171	192	46	170	111	143	0,25	0,09	0,99
PigMAP (mg/l) ³	540	453	286	356	897	461	462	310	187	329	787	364	120	0,03	0,09	0,97
WBC (10 ⁹ /l) ³	20,1	22,6	22,9	22,7	22,9	22,6	21,0	24,0	20,8	21,9	23,2	22,2	1,56	0,44	0,85	0,44
Neutrofielen (10 ⁹ /l) ³	9,4	8,3	9,7	8,7	8,9	11,0	9,0	10,4	9,4	8,5	8,2	9,5	1,05	0,56	0,81	0,58
Lymfocyten (10 ⁹ /l) ³	11,0	13,4	12,1	14,0	12,7	10,1	12,1	13,0	10,0	13,3	13,9	11,4	0,98	0,04	0,87	0,13
Neutrofielen (%) ⁴	45,7	35,1	43,1	37,7	39,4	48,3	41,3	41,9	44,7	38,0	37,1	43,6	3,06	0,06	0,76	0,27
Lymfocyten (%) ⁴	50,3	61,1	55,2	60,0	56,0	47,5	53,9	55,6	52,4	59,4	59,3	52,9	2,94	0,02	0,70	0,27
Anti KLH titer van IgG ⁴	4,86	3,98	3,83	3,71	4,45	4,83	5,45	4,05	3,50	3,59	4,45	4,50	0,33	0,004	0,76	0,15
Anti KLH titer van IgM ⁴	4,40	4,25	4,13	4,20	5,34	4,71	5,28	4,28	4,26	3,99	5,50	4,83	0,29	0,12	0,20	0,17
NAPI ^{4,5}	29,0	31,7	13,5	8,9	27,8	36,6	23,2	19,7	17,7	7,1	23,1	14,6	9,1	0,07	0,11	0,99

¹ In het laag eiwit voer waren het eiwit- en de aminozuurgehalten 30% lager dan in het eiwit adequate voer.

² SEM = gepoolde standaard error van het gemiddelde

³ Data zijn weergegeven als mean

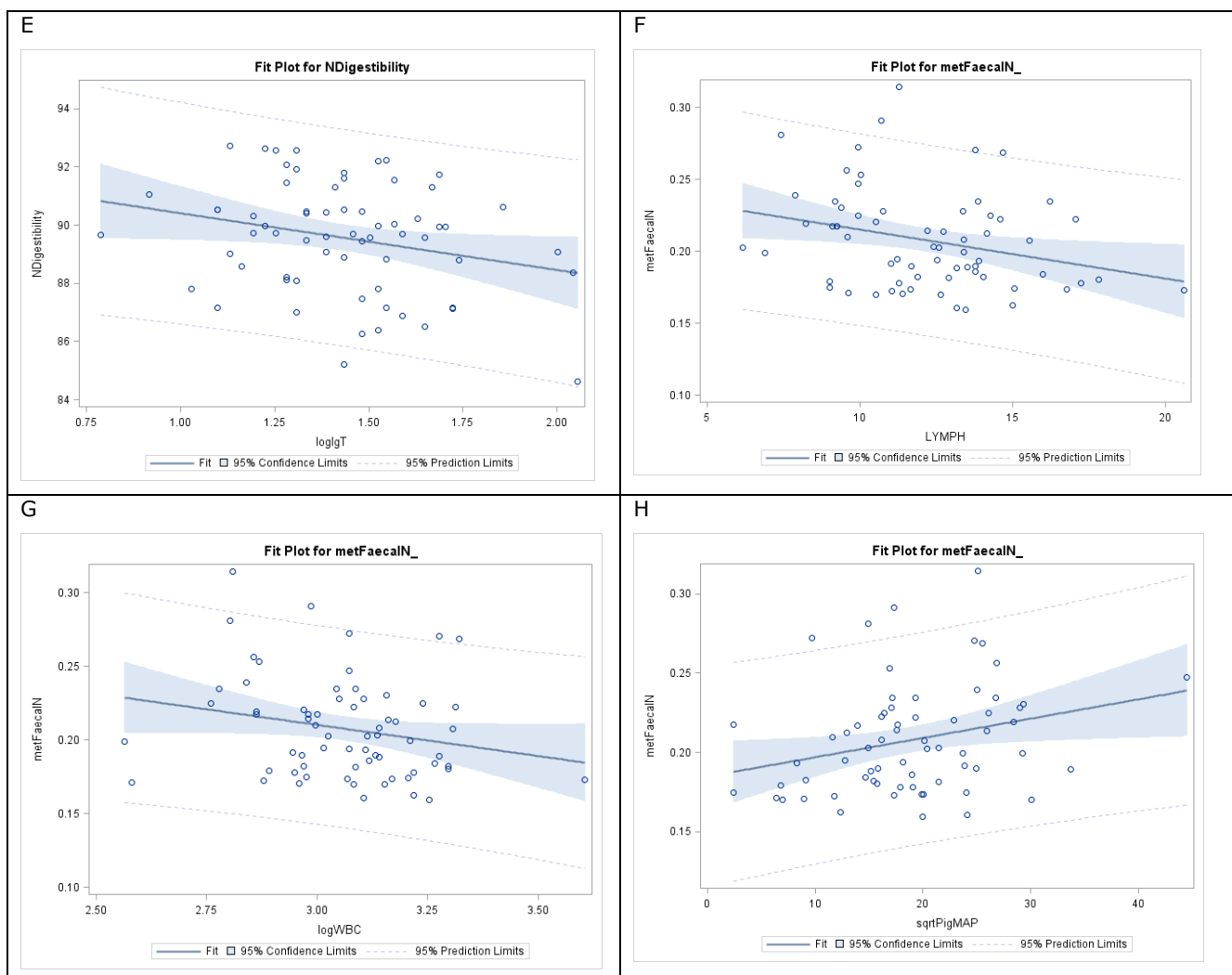
⁴ Data zijn weergegeven als LSM

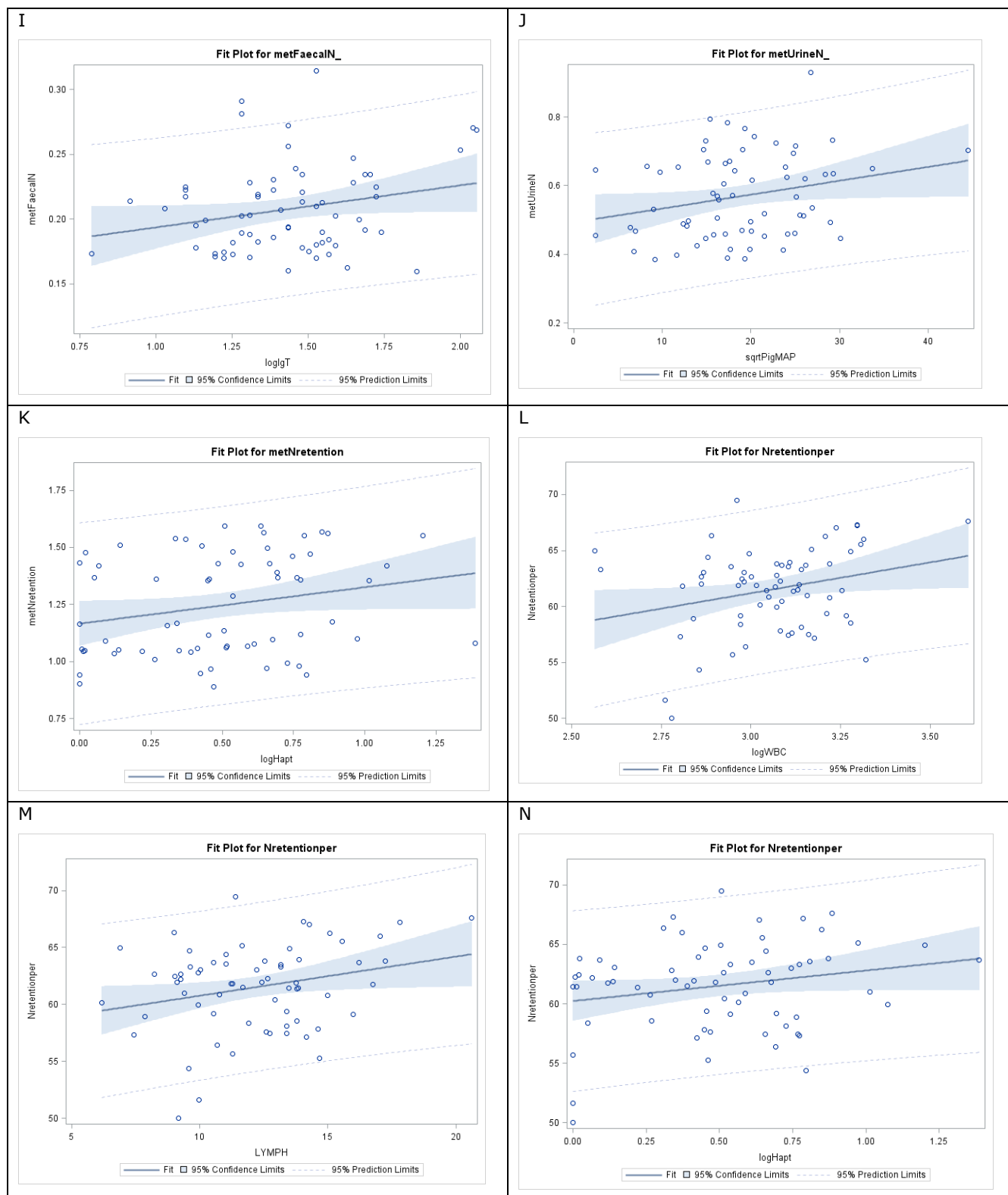
⁵ NAPI = nutritional acute fase index

Bijlage 8 Relatie N-balans en immuunparameters

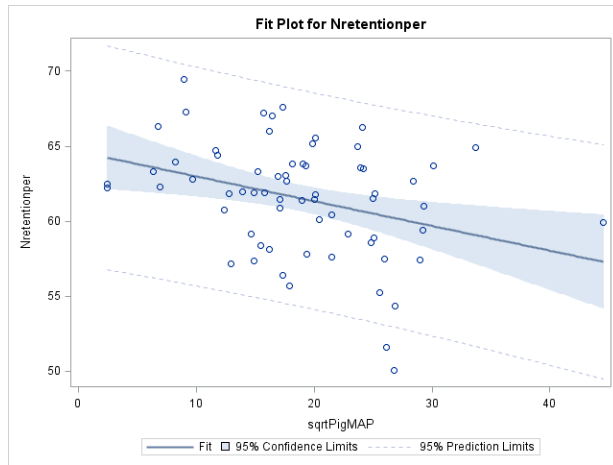
Nagegaan is of er relaties zijn tussen de gemeten N-balans en immuun parameters. De significante relaties zijn beschreven en in figuren weergegeven.

De N-verteerbaarheid heeft een negatieve relatie met IgG ($p = 0,04$; $b = -1,95$). De N-uitscheiding in de mest heeft een negatieve relatie met de concentraties lymfocyten ($p = 0,02$; $b = -0,00341$) en witte bloedcellen ($p = 0,07$; $b = -0,042$) en een positieve relatie met PigMAP ($p = 0,03$; $b = 0,0012$) en IgG ($p = 0,0574$; $b = 0,032$). Er is een positieve relatie tussen de N-uitscheiding in de urine en PigMap ($p = 0,05$; $b = 0,004$) en tussen de N-aanzet (in g/kg lichaamsgewicht^{0,75} per dag) en haptoglobine ($p = 0,06$; $b = 0,159$). De N-aanzet (% van de totale N-opname) heeft een positieve relatie met de concentratie witte bloedcellen ($p = 0,04$; $b = 0,034$) en haptoglobine ($p = 0,08$; $b = 2,57$) en een negatieve relatie met PigMAP ($p = 0,006$; $b = -0,165$), IgM ($p = 0,01$; $b = -5,62$) en IgG ($p = 0,015$; $b = -4,55$). De N-aanzet (% van de verteerbare N-opname) heeft een positieve relatie met de concentraties witte bloedcellen ($p = 0,06$; $b = 4,73$) en lymfocyten ($p = 0,09$; $b = 0,281$) en een negatieve relatie met PigMAP ($p = 0,009$; $b = -0,1574$), IgM ($p = 0,03$; $b = -4,871$) en IgG ($p = 0,06$; $b = -3,607$). Bij geen enkele relatie was sprake van een bedrijfseffect.

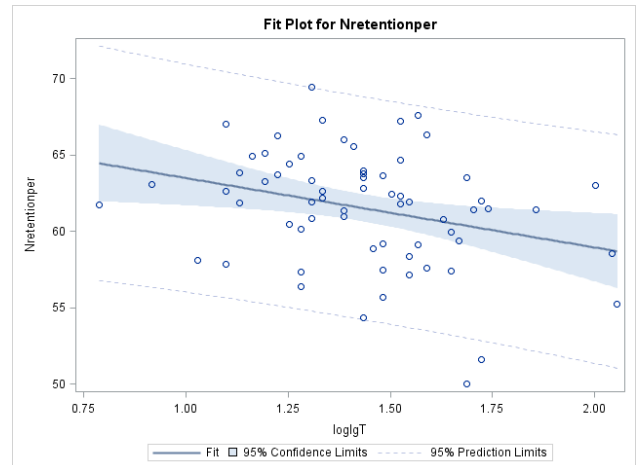




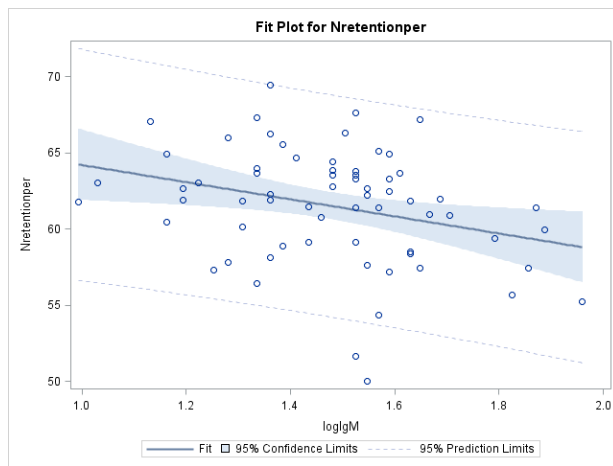
O



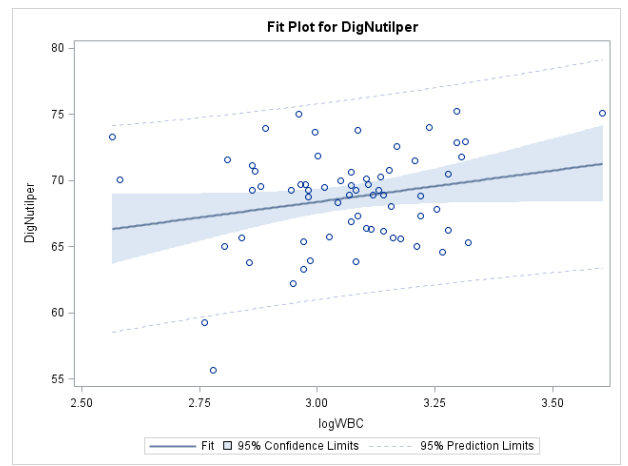
P



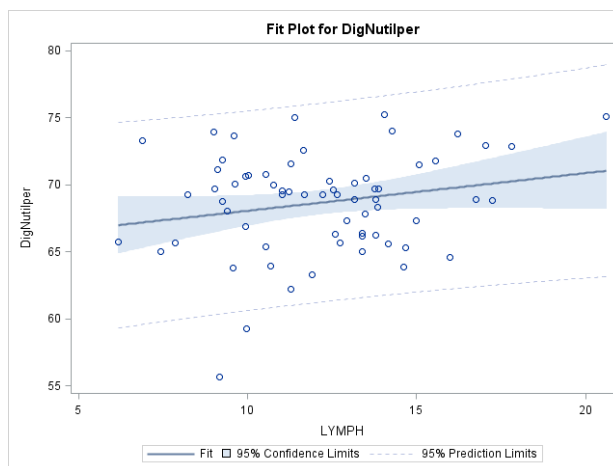
Q



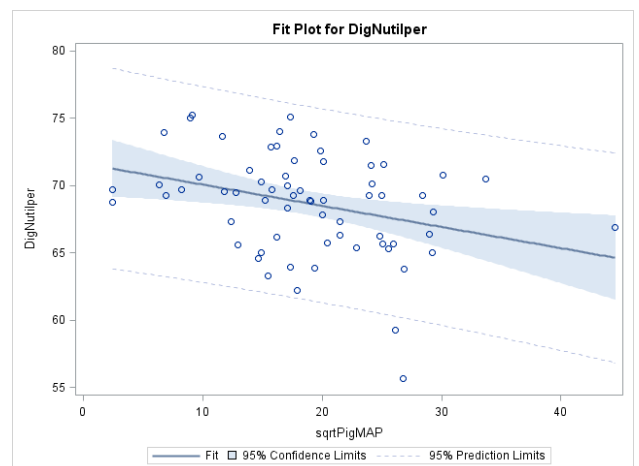
R



S

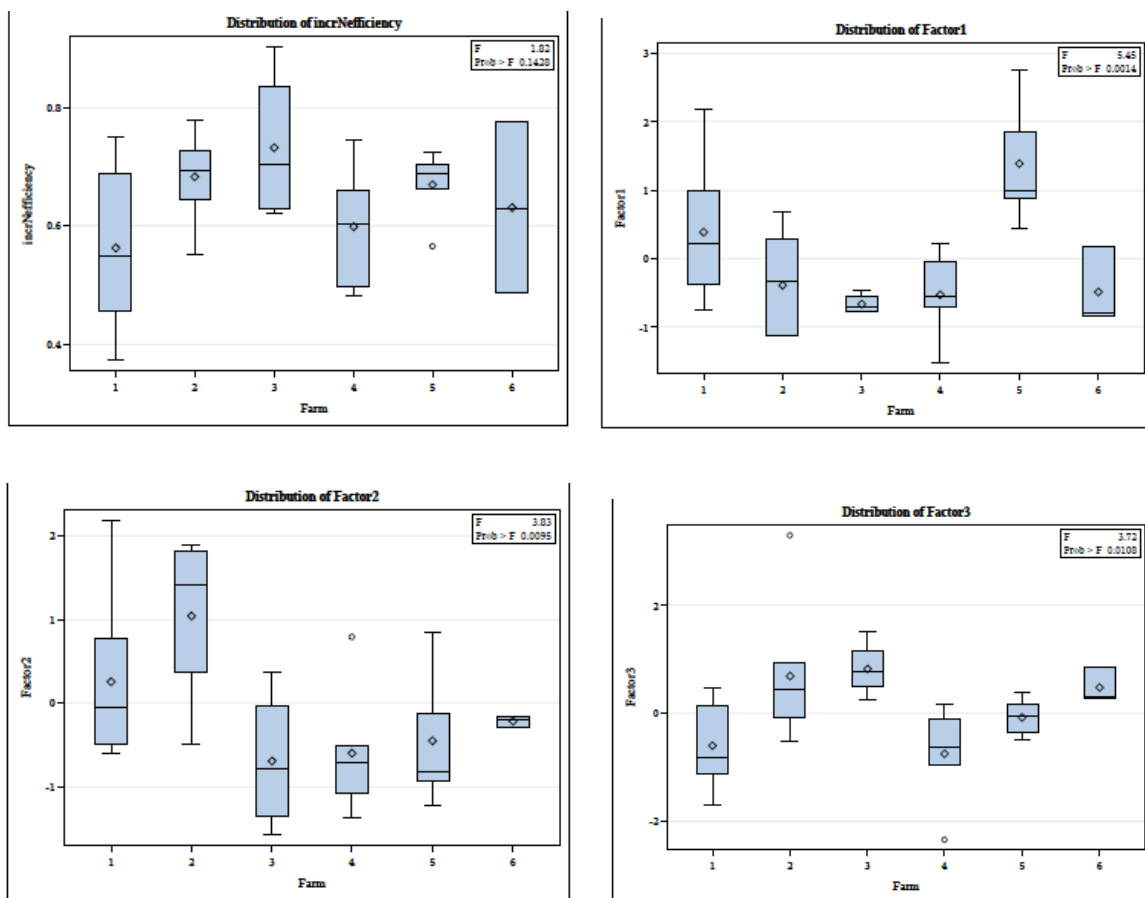


T



Bijlage 9 Relatie marginale N-efficiëntie en immuun parameters per bedrijf

In onderstaand figuur zijn boxplots van de marginale N-efficiëntie en drie via PCA bepaalde immuun factoren per bedrijf weergegeven. Factor 1 heeft een hoge correlatie met de innate immuun respons, factor 2 met de concentratie acute fase eiwitten in bloed en factor 3 met de cellulaire immuun respons.



To explore
the potential
of nature to
improve the
quality of life



Wageningen UR Livestock Research
Postbus 338
6700 AH Wageningen
T 0317 48 39 53
E info.livestockresearch@wur.nl
www.wageningenUR.nl/livestockresearch

Wageningen UR Livestock Research ontwikkelt kennis voor een zorgvuldige en renderende veehouderij, vertaalt deze naar praktijkgerichte oplossingen en innovaties, en zorgt voor doorstroming van deze kennis. Onze wetenschappelijke kennis op het gebied van veehouderijsystemen en van voeding, genetica, welzijn en milieu-impact van landbouwhuisdieren integreren we, samen met onze klanten, tot veehouderijconcepten voor de 21e eeuw.

De missie van Wageningen UR (University & Research centre) is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen UR bundelen 9 gespecialiseerde onderzoeksinstituten van stichting DLO en Wageningen University hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 30 vestigingen, 6.000 medewerkers en 10.000 studenten behoort Wageningen UR wereldwijd tot de aansprekende kennisinstellingen binnen haar domein. De integrale benadering van de vraagstukken en de samenwerking tussen verschillende disciplines vormen het hart van de unieke Wageningen aanpak.

