

Paratuberculose in de melkgeitenhouderij

Literatuurscan

Verzamelen en analyseren van voor de sector relevante informatie om daarmee kennisleemtes aan te duiden en innovaties op pakken en uit te werken die kunnen leiden tot mogelijke strategieën in de beheersing van paratuberculose.

Onderdeel van de publiek private samenwerking (PPS) kleine herkauwers, topsector Agri&Food

Inhoud

1	Inleiding.....	3
1.1	Achtergrond	3
1.2	Doel van het project.....	5
2	Paratuberculose detectie.....	6
2.1	Diagnostische mogelijkheden	6
2.2	Prevalentie bij runderen	7
2.3	Prevalentie bij kleine herkauwers.....	7
3	Erfelijkheid, leeftijdsresistentie, maternale immuniteit en biest	9
3.1	Erfelijkheid	9
3.2	Leeftijdsresistentie.....	10
3.3	Maternale immuniteit.....	11
3.4	Biest.....	12
4	Aanpak beheersing paratuberculose	15
4.1	Melkvee.....	16
4.1.1	Paratuberculose Programma Nederland	17
4.1.2	Aanpak in rundveehouderij als voorbeeld voor geitenhouderij	18
4.2	Kleine herkauwers.....	20
4.3	Vaccinatie	21
4.3.1	Gudair® vaccin.....	22
4.3.2	Nieuwe ontwikkelingen	23
4.4	Fytotherapie.....	25
4.4.1	Werking van kruiden	25
4.4.2	Kruiden met een antibacteriële activiteit tegen de paratuberculose bacterie	26
5	Algemene discussie, conclusies en aanbevelingen	28
6	Referenties.....	32

1 Inleiding

In het project *Paratuberculose in de melkgeitenhouderij* moet de beheersing van paratuberculose een nieuwe impuls krijgen door alle beschikbare informatie te verzamelen en beschikbaar te maken voor de sector. Op basis van de analyse van beschikbare informatie wordt in dit document duidelijk wat de huidige kennisleemtes zijn op het gebied van paratuberculose bij melkgeiten. Hiervoor wordt regelmatig teruggegrepen op wat er bekend is bij andere herkauwers, zoals het rund en het schaap. Ook wordt relevante informatie vanuit verschillende windstreken meegenomen. Dit laatste is belangrijk omdat de kennis en ervaring met (beheersing van) paratuberculose in de melkgeitenhouderij nog beperkt is in Nederland. Het doel is om kansrijke oplossingsrichtingen vast te stellen waarmee de paratuberculoseproblematiek voor de Nederlandse (professionele) geitenhouder beter beheersbaar zou kunnen worden. Het project maakt onderdeel uit van de publiek-private samenwerking kleine herkauwers (PPS-KH) tussen het ministerie van EZ en van de melkgeitensector het (voormalige) Productschap Zuivel (de melkgeitensector). Het project wordt uitgevoerd door de Gezondheidsdienst voor Dieren, Livestock Research en Centraal Veterinair Instituut van Wageningen UR, en de faculteit Diergeneeskunde.

1.1 Achtergrond

Paratuberculose is een aandoening die wereldwijd voorkomt. Het is een infectieuze ontsteking van het laatste deel van de dunne darm (ileum) van herkauwers (rund, schaap en geit). De verwekker is *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* (Map). De besmetting vindt direct plaats door overdracht (van moeder naar ongeboren vrucht) in de baarmoeder, via biest en melk of indirect door contact met Map besmette mest, water, voer of oppervlakten. Inmiddels is het ook aannemelijk dat de besmetting via ingeademde lucht kan plaatsvinden [1]. De paratuberculosebacterie kan, dankzij een beschermend wasachtig laagje aan de buitenkant van de bacterie, lang buiten het dier overleven in bijvoorbeeld mest, voer en water. De bacterie sterft snel onder invloed van UV-straling, zoals zonlicht. Herkauwers kunnen hun hele leven lang besmet raken, maar lijken vooral op jonge leeftijd gevoelig. De bacterie nestelt zich bij voorkeur in het laatste deel van de dunne darm, maar kan overal in het lichaam teruggevonden worden. Paratuberculose kan een incubatieperiode (tijd tussen de besmetting en de eerste klinische symptomen) van jaren hebben. Afhankelijk van de mate van besmetting en de leeftijd waarop het dier besmet raakt, krijgen geiten gemiddeld tussen de twee en vier jaar ziekteverschijnselen. De aandoening is te herkennen

aan vermagering, ondanks goede eetlust, een afname van de melkproductie, een dorre vacht en schilferige huid. In tegenstelling tot runderen wordt de typische waterdunne diarree met belletjes bij geiten zelden waargenomen. Als het bij de geit al gezien wordt, is dit in het eindstadium van de ziekte, een stadium dat de meeste melkgeiten niet bereiken omdat ze voor die tijd vaak al vervangen zijn vanwege tegenvallende melkproductie. Met paratuberculose besmette hobbygeiten bereiken dit eindstadium soms wel. De typische vochtophoping (oedeem) tussen de onderkaaktakken wordt wel ook gezien bij geiten in een vergevorderd stadium van de ziekte. Door de ontsteking van het laatste deel van de dunne darm ontstaat een verminderde darmfunctie. Niet alleen de opname van eiwitten vermindert, maar uiteindelijk is de uitscheiding van eiwitten verstoord. Hierdoor ontstaat een tekort aan eiwitten in het bloed dat kan leiden tot het uittreden van vocht, dat zichtbaar wordt als oedeem, bijvoorbeeld tussen de onderkaken. Paratuberculose is vooralsnog niet te genezen, en uiteindelijk sterven de meeste besmette dieren vroegtijdig.

In het klassieke beeld van paratuberculose zijn miljoenen paratuberculosebacteriën (multibacillaire variant) zichtbaar aanwezig in de aangetaste darm, maar met weinig ontstekingscellen. Hierbij kunnen vaak paratuberculosebacteriën in de darm en/of mest worden aangetoond. Naast deze multibacillaire variant komt ook de paucibacillaire (pauci is Latijn voor weinig) variant voor. Deze vorm wordt gekarakteriseerd door de afwezigheid van zichtbare paratuberculosebacteriën in het aangetaste weefsel, en een overdreven ontstekingsreactie. Hierbij is het vrijwel onmogelijk om Map te isoleren uit weefsel en mest.

Vooraf vanuit bedrijfseconomisch- en dierwelzijnsoogpunt is het interessant om paratuberculose te beheersen, bestrijden of om zelfs tot eradicatie over te gaan. Bij runderen gebeurt dit al. Binnen de Nederlandse rundveehouderij zijn er op dit moment twee programma's: er geldt sinds 2005 het verplichte *Paratuberculose Programma Nederland* (PPN, sinds 2005) en het *Intensief Programma Paratuberculose* (sinds 1998). In de leveringsvoorwaarden van de zuivel is sinds 2010 een verplichting opgenomen om hieraan deel te nemen, en sinds 2011 is daar de voorwaarde aan toegevoegd dat melkleverende bedrijven een minimale status (status B) dienen te hebben. Ook de melkgeitensector is zich er al jaren van bewust dat paratuberculose een bedreiging vormt, zowel bedrijfseconomisch als op het gebied van het welzijn van de dieren. Een zogenaamde '*educated guess*' van betrokken specialisten op het gebied van diergezondheid schatte dat zeker 80% van de Nederlandse commerciële melkgeitenbedrijven met paratuberculose te maken heeft. Deze schatting is inmiddels bevestigd door de GD. Paratuberculose kan op bedrijfsniveau tot significante bedrijfseconomische schade leiden. Deze schade wordt voornamelijk veroorzaakt door melkproductieverlies, verhoogde uitval en vervroegde vervanging. Ook dierwelzijn kan in het

gedrang komen. Besmette geiten lijden, zeker in het eindstadium. Doel is beheersing van deze aandoening om de bedrijfseconomische en de welzijnsschade terug te dringen. Het is daartoe belangrijk om beheersing te formuleren als een potentieel meetbare uitleesparameter. Binnen het PPN is gekozen voor beheersing door te streven naar een reductie van de gemiddelde concentratie Map-bacteriën in afgeleverde tankmelk. Dit wordt niet daadwerkelijk gemeten, maar er wordt modelmatig mee gerekend. Maatregelen om tot die afname van Map-bacteriën in de tankmelk te komen, worden in een wiskundig model doorgerekend op effectiviteit. Op deze berekeningen is het PPN gestoeld. Het is denkbaar dat de melkgeitenhouderij voor een vergelijkbare insteek zouden kiezen.

Voordat kan worden overgegaan tot het identificeren van kansrijke oplossingsrichtingen moeten mogelijk risico's onderzocht worden, bijvoorbeeld het aantonen van de bacterie en antilichamen in de biest. En vervolgens moet worden onderzocht hoe de bacterie onschadelijk kan worden gemaakt [2-9]. Een andere belangrijke kennisleemte betreft de mogelijke leeftijdsresistentie voor paratuberculose in melkgeiten. Ook het effect van de paratuberculosevaccinatie met Gudair® in de voorgestelde beheersingsaanpak zou nader onderzocht moeten worden. Verder onderzoek naar de rol van het immuunapparaat in het maagdarmkanaal bij de infectie, en daarmee het verkennen van kansrijke interventiestrategieën op het gebied van de weerstand, behoort ook tot de mogelijkheden. Ondanks dat uit eerder onderzoek [10] bleek dat Map bij geiten uit Marokko, Zuid Afrika, de Verenigde Staten en Duitsland tot de zogenaamde 'cattle strain' behoorden, is dit voor de Nederlandse melkgeitenpopulatie nog niet opgehelderd. Middels isolatie en typering van verwekkers kan bepaald worden of hier een 'cattle strain' of misschien toch een 'sheep strain' een rol speelt. Het invullen van deze kennisleemte biedt inzicht over welke sector een potentieel gevaar vormt voor de melkgeitensector, maar ook andersom. Kansrijke oplossingsrichtingen voor de beheersing van de paratuberculoseproblematiek voor de Nederlandse (professionele) geitenhouder zouden kunnen liggen in een strikte scheiding van runderen of schapen.

1.2 Doel van het project

De paratuberculoseproblematiek voor de Nederlandse (professionele) geitenhouder zou beter beheersbaar kunnen worden door kansrijke oplossingsrichtingen te identificeren. In dit project is daarvoor een aantal fasen te onderscheiden. In fase 1 van de PPS Kleine herkauwers wordt de beschikbare wetenschappelijke en praktische informatie over paratuberculose verzameld en gerapporteerd met als doel eventuele relevante kennisleemtes vast te stellen. Eventuele kansrijke oplossingsrichtingen worden in fase 2 uitgewerkt. In fase 2 wordt op basis van de in de eerste fase verzamelde informatie ook een plan van aanpak gemaakt dat in fase 3 wordt geïmplementeerd. Fase

1 en 2 sluiten aan bij het driejarige GD-project *Paratuberculose in de melkgeitenhouderij* (projectnummer 2080036), dat startte in 2011. Het doel ervan was tweeledig. Enerzijds kon het project inzicht geven in de mate van besmetting met paratuberculose in de Nederlandse melkgeitenhouderij, beginnend op de bedrijven die deelnamen aan dat project. Anderzijds kan het helpen een start te maken met de bestrijding van paratuberculose in de melkgeitenhouderij.

2 Paratuberculose detectie

2.1 Diagnostische mogelijkheden

Er zijn verschillende manieren om aan paratuberculosebesmetting in een individueel dier aan te tonen. De ziekteverschijnselen zijn reeds beschreven in paragraaf 1.1. Het pathologische beeld is typisch. Sectie toont de typische aantasting van het laatste deel van de dunne darm, en de lymfeknopen in de ophangband van de dunne darm zijn dan sterk vergroot. Er bestaan ook testen die de reactie van het dier op een infectie met de paratuberculosebacterie aantonen. De meest gebruikte testen tonen antilichamen in bijvoorbeeld bloed en melk aan. Antilichamen, ook immunoglobulinen (afgekort Ig) of antilstoffen genoemd, zijn eiwitten die door het dier worden geproduceerd als reactie op antigenen. Dit zijn lichaamsvreemde stoffen zoals virussen, bacteriën of grotere moleculen.

Het antigeen waar dit literatuuroverzicht over gaat is natuurlijk de paratuberculosebacterie. Doordat de antilichamen zich aan de antigenen van lichaamsvreemde stoffen binden, kunnen deze onschadelijk worden gemaakt. Voorbeelden van testen die hierop zijn gebaseerd zijn de enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), agar gel immunodiffusion test (AGIDT) en de complement bindings reactie (CBR) test. Daarnaast bestaat ook nog de gamma-interferon test die deze specifieke afweer aantoont. Hierbij worden bloedcellen van een geïnfecteerd dier in contact gebracht met Map. Vervolgens wordt de reactie van deze bloedcellen in de vorm van gamma interferonproductie gemeten. De reactie van het dier op een mogelijke infectie kan ook nog aangetoond worden met een huidtest, de zogenaamde intradermale johnine test. Hiertoe wordt een kleine hoeveelheid johnine in de huid aangebracht, waarna de reactie aan die huid wordt afgelezen (op omvang, roodheid, bultvorming). Daarnaast bestaan er verschillende directe *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*-testen. Dit zijn testen die de paratuberculosebacterie aantonen. De kweek, die voornamelijk op mest wordt uitgevoerd, is lange tijd de belangrijkste methode geweest om paratuberculose aan te tonen. Bij de kweek wordt mest in een speciaal medium gebracht en in een stoof op lichaamstemperatuur (circa 37 graden Celsius) gehouden. Het idee is dat de aanwezige Map-bacteriën zich hierin kunnen vermenigvuldigen en daarna gemakkelijker kunnen worden

aangetoond. Voor het aantonen kunnen twee verschillende technieken gebruikt worden. Deze technieken kunnen uiteraard ook zonder kweek worden toegepast, op bijvoorbeeld mest en op weefsel. De eerste methode is de zogenaamde Ziehl-Neelsen kleuring (ZN-kleuring). Hierbij wordt een kleuringstechniek toegepast waarna de paratuberculosebacteriën onder de microscoop goed te zien zijn als zuurvaste staafjes. De tweede methode is de polymerase chain reaction (PCR) test. Bij deze moleculair biologische techniek wordt het DNA van de paratuberculosebacterie aangetoond. De PCR is een zeer gevoelige methode. De gevoeligheid van zowel de PCR als de ZN-kleuring kan verhoogd worden door vooraf een kweek te laten uitvoeren.

Het is belangrijk om te beseffen dat beschikbare testen die een paratuberculose-infectie meten een beperkte gevoeligheid en specificiteit hebben, waardoor prevalentiestudies op een onderschatting uit komen [11]. Maar als je op de juiste wijze corrigeert voor de testeigenschappen, kom je niet altijd op een onderschatting uit. Als er sprake is van een dergelijke correctie spreekt men van de waarlijke of 'true prevalence'.

2.2 Prevalentie bij runderen

Een review over de prevalentie van Map bij gedomesticeerde herkauwers in Europa geeft gemiddelde cijfers van ten minste 3 tot 5% tot ongeveer 20% (waarlijke of 'true prevalence', waarbij de testbeperkingen in sensitiviteit en specificiteit zijn meegenomen) bij runderen [12]. Op bedrijfsniveau (bedrijfsprevalentie) zou op meer dan de helft van de rundveebedrijven Map voorkomen. Geen enkel Europees land heeft voldoende informatie gepubliceerd om zich paratuberculosevrij te kunnen noemen.

In 2000 is een onderzoek uitgevoerd onder Nederlandse melkveebedrijven om de prevalentie van paratuberculose te schatten [13]. In totaal zijn 15822 koeien (minimaal drie jaar oud) afkomstig van 378 boerderijen bemonsterd (ELISA). De prevalentie van besmetting werd geschat op 2.7 tot 6.9% van de runderen voor de binnenbedrijfsprevalentie, en 31 tot 71% van de bedrijven voor de bedrijfsprevalentie, afhankelijk van aannames over de eigenschappen van de test.

2.3 Prevalentie bij kleine herkauwers

Volgens het eerder genoemde reviewartikel zou de bedrijfsprevalentie voor schapen en geiten minder dan 20% zijn, voornamelijk gebaseerd op studies uit Zwitserland en Spanje [12]. Voor geiten zijn de volgende bedrijfsprevalenties gevonden: Griekenland 0% (n=aantal onderzochte kudde=38, methode: AGID en mestkweek) [14], Spanje 52% (1996, n=23, AGID) [15], Zwitserland 23% (2002, n=344, tankmelk IS900 PCR=PCR op specifieke IS900 locus van de bacterie) [16], Engeland, Wales en Noord-Ierland 1% (1998, n=90, kweek en IS900 immunomagnetische separatie IMS-PCR) [17]. Voor

Literatuurscan paratuberculose

schapen zijn de bedrijfsprevalenties respectievelijk: Griekenland 0% (n=13, AGID, mestkweek) [14], Spanje 29% (1996, n=38, AGID), Zwitserland 24% (2002, n=63, tankmelk IS900 PCR) [16], Engeland, Wales, Noord-Ierland 0% (1998, n=14, kweek en tankmelk IS900 IMS-PCR) [17]. In sommige landen is enkel informatie bekend van gemengde kuddes met schapen en geiten: Portugal 27% (n=66 mix van schapen en geiten, ELISA) [18], Slovenië 12% (2000-2001, n=438 mix van schapen en geiten, ELISA) [19].

Lang niet al deze informatie is afkomstig uit zogenaamde 'double peer-reviewed'-artikelen en niet altijd te verifiëren (Griekenland), of de monsternamen is niet random (Spanje, Engeland, Wales en Noord-Ierland, en Portugal).

Niet gecorrigeerde prevalenties op dierniveau bij geiten geven de volgende uitkomsten: Oostenrijk 0% (n=aantal geteste dieren=80, mest- en weefselkweek, ELISA) [20], Noorwegen 1,1% (2002, n=662, 10 oudste dieren in kudde, mestkweek) [21], Kroatië 0% (2001, n=375, ELISA) [22]. Bij schapen zijn de cijfers als volgt: Oostenrijk 0,6% (n=169, ELISA, weefsel- en mestkweek) [20], Noorwegen 0,3% (2002, n=369, mestkweek) [21], en Kroatië 0,6% (2001, n=356, ELISA) [22]. In twee landen zijn alleen cijfers bekend van gemengde kuddes kleine herkauwers. Portugal 1,7% (n=2351 mix schapen en geiten, ELISA/CSL) [18], Slovenië 3,5% (2000-2001, n=12578 mix schapen en geiten, ELISA) [19].

Ware (true) prevalenties bleken vaak 0% te zijn, terwijl er wel positieven gevonden werden. Resultaten zijn moeilijk vergelijkbaar omdat er bijvoorbeeld niet random bemonsterd was (Noorwegen), de aantallen erg klein (Oostenrijk) of schapen en geiten gezamenlijk bekeken waren (Slovenië). Naast beschreven studies in de review [12], waarvoor informatie tussen 1990 en 2007 meegenomen is, zijn ook nog studies uit andere landen beschikbaar.

In Korea is in 2006 met behulp van ELISA een seroprevalentiestudie verricht onder 582 Koreaanse zwarte geiten afkomstig van 116 kuddes [23]. De bedrijfsprevalentie was 18.2 tot 38.2% en de binnenbedrijfsprevalentie was 4.6 tot 15.3%. Een systematische review betreffende de prevalentie van paratuberculose in Latijns Amerika en het caribisch gebied leverde voor geiten een gemiddelde bedrijfsprevalentie van 3,7% en gemiddelde prevalentie bij geiten op dierniveau van 4,3% op [24]. Voor schapen waren alleen cijfers op dierniveau beschikbaar en dat leverde een gemiddelde prevalentie van 16% op [24]. In de periode van 1987-2003 werd bij 322 van de 777 (41.4%) geiten kuddes in Noord-Griekenland paratuberculose vastgesteld [25]. In Noorwegen is in 2003 bij 340 geiten, afkomstig uit 34 kuddes, gekeken naar paratuberculose-DNA in melk. Dit is middels kweek gevolgd door immunomagnetische separatie gecombineerd met PCR (IMS-PCR) [26]. Het aantal

besmettingen op bedrijven waar in het verleden al eens paratuberculose was vastgesteld, was lager (3,3%) dan in kuddes waar nog nooit paratuberculose was vastgesteld (9,1%, $P=0,048$). Relatief ongeveer evenveel bedrijven (die wel en niet vaccineerden) hadden positieven. Gevaccineerde dieren ouder dan vier jaar waren vaker positief dan gevaccineerde geiten jonger dan twee jaar. Een Franse studie met behulp van de ELISA uit 2010 op 11847 geiten afkomstig uit 105 kuddes laat een bedrijfsprevalentie van 55,2% (true 62,9%) en een binnenbedrijfsprevalentie van 5,9% (true 11,1%) zien [27].

Uit onderzoek van de Gezondheidsdienst voor Dieren (nog niet gepubliceerd) blijkt dat de bedrijfsprevalentie van paratuberculose bij melkgeiten tussen de 78,0% (63,0%-88,0%) en 85,5% ligt (71,5%-93,3%), afhankelijk van de gekozen afkapwaarde van de ELISA test (9,5% of 19,5%). Dit is getest op negenenveertig bedrijven (10% van het koppel of 50 verdachte dieren). Die 9,5% is de onderwaarde van het dubieuze gebied en betekent dat een dubieuze uitslag als positief wordt aangemerkt. Van de binnenbedrijfsprevalentie is wederom een tweetal berekeningen gemaakt, met afkapwaardes van 9,5% en 19,5%. Verder is er alleen gekeken naar resultaten van reguliere melkgeitenhouderijen en zijn de biologische melkgeitenhouderijen buiten beschouwing gelaten. Afhankelijk van de afkapwaarde ligt de binnenbedrijfsprevalentie bij de tweeëntwintig onderzochte bedrijven tussen de 3,6% (spreiding: 0,0% tot 7,0%) en 8,0% (spreiding: 0,0% tot 15,7%). Deze cijfers zijn nog niet gecorrigeerd naar de ware prevalentie.

3 Erfelijkheid, leeftijdsresistentie, maternale immuniteit en biest

3.1 Erfelijkheid

In de commerciële geitenfokkerij wordt onvoldoende rekening gehouden met de levensduur van geiten. Momenteel is jaarproductie een belangrijk selectie criterium, waarin zowel kilogram melk als kilogram vet en eiwit een hoge impact hebben en gecorrigeerd worden voor leeftijd bij aflammeren, dagen in lactatie en maand van aflammeren. In plaats van een jaarproductie, zou een levensproductie een beter selectie criterium kunnen zijn. Enerzijds houdt dit rekening met de kracht van het dier om een hoge productie lang vol te houden, met naar verwachting een hoge weerstand tegen ziektes en een groot herstellend vermogen. Anderzijds kan dit, in het kader van duurzaamheid, meer maatschappelijke draagvlak creëren voor de melkgeitenhouderij (*'licence to produce'*).

Bij het bereiken van een hogere levensproductie speelt wellicht de weerstand tegen paratuberculose ook een rol. Genetische variatie in gevoeligheid voor paratuberculose is aangetoond bij koeien en geiten. Bij Amerikaanse Holsteinkoeien is een erfelijkheidsgraad van rond 0.1 gevonden, enigszins

afhankelijk van de testmethode [28]. Men achtte dit voldoende om het op te nemen in een fokkerijprogramma. Een vergelijkbare erfelijkheidsgraad werd aangetoond voor de respons op antilichamen bij Holsteinkoeien in Duitsland [29] en voor Holsteinkoeien in Denemarken [30]. In Nederland werd een lagere erfelijkheidsgraad gevonden (0,06 voor de gehele populatie), maar werd wel aangegeven dat de genetische variatie een instrument kan zijn in de bestrijding van paratuberculose [31]. De geschatte erfelijkheidsgraad voor Nederlandse Holsteins is 0,031 voor de overall dataset en 0,097 voor bedrijven waarin tenminste 10% van de dieren besmet is [32]. Afhankelijk van het ras vonden ze in India erfelijkheidsgraden van 0,15 en 0,01 voor respectievelijk Barbari en Jamnapari geiten [33,34]. Bij Nederlandse witte melkgeiten is een erfelijkheidsgraad van 0,07 tot 0,12 gevonden, afhankelijk van de dataset [35].

Met de gevoeligheid voor paratuberculose kan in de fokkerij rekening gehouden worden, door erfelijkheidsgraden voor de gevoeligheid voor paratuberculose te betrekken bij selectie op levensproductie. Het past goed in de filosofie dat alleen gezonde dieren die een hoge productie lang vol kunnen houden een relatief lange levensduur hebben. Deels speelt de gevoeligheid voor paratuberculose daarin mee, deels kan ook andere aanleg van belang zijn.

3.2 Leeftijdsresistentie

In de literatuur over paratuberculose bij het rund, en in mindere mate bij kleine herkauwers, wordt vaak gesproken over leeftijdsresistentie tegen paratuberculose. Door middel van experimentele infectie is vastgesteld dat een eerste blootstelling aan de Map bij oudere koeien minder makkelijk resulteert in een chronische infectie. Daarnaast is het verloop van de infectie minder ernstig, dan wel minder progressief [36]. Een recente experimentele studie concludeerde dat ook kalveren ouder dan een jaar gevoelig waren voor infectie en dat de ernst mede afhing van de infectieuze dosis [37]. Recente meta-analyses van gepubliceerde studies over experimentele infecties bij het rund, geven aan dat er geen leeftijdsresistentie lijkt te bestaan. Wel dat een blootstelling direct na de geboorte in combinatie met een gecontamineerd milieu het risico vergroot op progressieve infectie en het optreden van klinische verschijnselen [38].

De combinatie van infectieuze dosis en leeftijd van blootstelling lijkt de verklarende factor te zijn voor het verloop van de infectie na experimentele blootstelling. Jong blootgesteld worden aan een hoge dosis geeft het grootste risico om klinische paratuberculose te ontwikkelen [39]. Bij herten (red deer) is een sterke leeftijdsresistentie tegen het ontstaan van klinische en subklinische paratuberculose waargenomen, maar niet tegen infectie [40]. Vergelijkbare conclusies werden

getrokken op basis van een recent experiment in een gerandomiseerde longitudinale veldstudie met 840 merino schapen, waar zowel leeftijd van blootstelling als dosis werden gevolgd [41].

Hieruit zouden we voorzichtig kunnen concluderen dat een goed management (waaronder strikte hygiënemaatregelen) van jonge en opgroeiende geiten van groot belang is. Er valt veel te bereiken met reductie en vertraging van blootstelling voor het optreden van klinische en subklinische paratuberculose. Hoewel het aannemelijk is dat eenzelfde relatie tussen dosis en leeftijd van blootstelling bestaat, is het wel zo dat vergelijkbare gegevens voor geiten grotendeels ontbreken en dus nader onderzocht zouden moeten worden.

3.3 Maternale immuniteit

Lammeren en kalveren worden immunologisch naïef geboren. Ze zijn sterk afhankelijk van de goede overdracht van maternale immuniteit via de biest en moedermelk in de eerste drie maanden, totdat ze zelf in staat zijn een goede (specifieke) immuunrespons te genereren. De maternale immuniteit is dat gedeelte van de specifieke immuunrespons die direct van moeder op nakomeling wordt overgedragen. Bij herkauwers (in tegenstelling tot primaten) is de placenta tijdens de dracht niet doorlaatbaar voor macromoleculen zoals antilichamen [42]. De overdracht van antilichamen vindt plaats bij herkauwers (inclusief de geit) door opname van biest gedurende de eerste 12 tot 24 uur na de geboorte [43]. De kwaliteit van biest, gemeten aan de concentratie en hoeveelheid antilichamen (immuunglobulinen, ofwel Ig), de tijdige opname van biest na de geboorte en dus een adequaat biestmanagement (veel, vlug en vaak) is essentieel voor de gezondheid van jonge herkauwers [42-45].

De overdracht van antilichamen uit de biest naar het bloed gebeurt in de darm door specifieke receptoren (FcRn). Deze FcRn moleculen lijken op histocompatibiliteitsmoleculen (MHC klasse I) en zijn essentieel in de IgG en albumine regulatie [46,47]. Net als MHC klasse I moleculen zijn de FcRn geassocieerd met beta-2 microglobuline. Bij pasgeboren kalveren en lammeren reguleren FcRn moleculen het transport van Ig vanuit het maagdarmkanaal naar het bloed. Ze zorgen ervoor dat de Immuunglobulinen niet afgebroken worden maar intact en functioneel worden verplaatst, inclusief moleculen die eraan gebonden zijn [46]. Naast onvoldoende biestkwaliteit en slecht biestmanagement kunnen genetische afwijkingen aan beta-2 microglobuline leiden tot het zogenaamde failure passive transfer (FPT) syndroom. Daarbij wordt onvoldoende Ig opgenomen door het pasgeboren kalf of lam, wat leidt tot een sterk verhoogd risico op ziekte en sterfte in de eerste maanden na de geboorte [42,48]. Genetische variaties in het FcRn-gen (FCGRT) hebben invloed op de hoeveelheid Ig die opgenomen kan worden vanuit de biest [49].

De rol van maternale antilichamen tegen Map is nog een onderwerp van discussie. Zowel melk als biest van koeien en geiten bevatten antilichamen die gericht zijn op een groot aantal ziekteverwekkers waaronder de paratuberculosebacterie [35,50-52]. Daarnaast is bekend dat biest van koeien ook Map bacteriën kan bevatten, hetzij via externe contaminatie met besmette mestdelen, hetzij op basis van met Map besmette macrofagen in de biest [53]. In jonge herkauwers is het laatste deel van de dunne darm (ileum) een immunologisch actief gebied met een Peyerse plaat van vrijwel aaneengesloten lymfoïde weefsel. Dit weefsel is betrokken bij de immunologische ontwikkeling van het jonge dier en helpt bij het ontwikkelen van tolerantie tegen voedseldelen. Gespecialiseerde microfoldcellen (M-cellen) reguleren het transport van voedsel- en milieu-antigenen naar deze secundaire lymfoïde organen. Deze M-cellen zijn echter ook een belangrijke ingang voor ziekteverwekkers zoals Map [54]. Een tweetal studies met elektronenmicroscopie heeft laten zien dat zowel bij kalveren als geiten de M-cellen een belangrijke rol spelen in de opname van Map. Het is gesuggereerd dat antilichamen die gebonden zijn aan Map de verplaatsing van de bacterie over M-cellen, en dus infectie, bevordert. Het is echter niet uit te sluiten dat antilichamen juist de efficiëntie van een infectie verminderen, door adhesie van Map aan epitheel in de darm te remmen [55,56].

De aanwezigheid van een grote hoeveelheid maternale antilichamen is enerzijds beschermend tegen infecties, maar de Ig's kunnen daarnaast de inductie van een specifieke immuunrespons door bijvoorbeeld vaccinatie remmen [57]. Deze functies, en de balans tussen positieve en negatieve effecten van maternale immuniteit, zijn voor paratuberculose bij herkauwers echter niet goed in beeld, in het bijzonder voor de geit.

3.4 Biest

De ideale duur van biestvoeding voor geiten is 24 uur; langer heeft geen effect op de IgG-bloedconcentratie. Meer dan drie lammeren per worp geeft een verdunnend effect op deze concentratie [58]. Extra voeding van commercieel verkrijgbare biest naast gewone biestvoeding heeft bij geiten geen effect op groei, immunologische parameters en mortaliteit [59].

In een uitgebreide studie [52] werd de samenstelling van melk van geiten (vet, eiwit, lactose, IgG, IgA en IgM) en diverse andere parameters van melk (pH, titreerbaar zuur, ethanol stabiliteit, stremsel, somatische cel tellingen) bepaald vanaf geboorte tot en met dag 90 in lactatie. Melk van dag 0 bevat de hoogste concentratie van factoren die een rol spelen bij overdracht van immuniteit aan pasgeboren dieren [52]. Runderbiest is goed bronmateriaal voor serologische diagnostiek voor Map. Niet-specifieke ELISA-reacties op biest komen slechts in 0,8% van de gevallen voor. Verder is de sensitiviteit op dag 4 130 keer zo hoog als op de dag van geboorte, nog voor de biestvoeding [60].

De bruikbaarheid van melkmonsters voor het testen op Map bij melkvee is afhankelijk van het aantal dagen sinds de eerste melkgift (dagen in melkproductie = DIM) en de melkopbrengst. Een DIM van een tot twee dagen geeft een veel hogere kans op vals positieven (9 tot 29 keer), terwijl de sensitiviteit nauwelijks verschilt met een DIM van meer dan drie dagen. In de praktijk is dit geen probleem, omdat runderen in de eerste twee dagen na afkalven in de regel niet worden meegenomen in de melk productie registratie (MPR)-monsternamen. Een hoge melkproductie verlaagt ook de sensitiviteit, waarschijnlijk door een verdunningseffect [61]. Een metastudie uit 2012 (waarin 23 papers werden samengevat) concludeert dat contact van jonge kalveren met mest van oudere dieren de belangrijkste risicofactor is voor overdracht van Map, onder andere gemedieerd door biest [62].

In een studie van 205 pasgeboren kalveren is niet aangetoond dat biest besmet met Map (PCR positief) een grotere kans geeft op latere Map-infectie (serologisch en met kweek bepaald), in vergelijking met toediening van Map-vrije biest [53]. Deze bevindingen zijn in tegenspraak met een eerder onderzoek van dezelfde onderzoeksgroep, waarin werd aangetoond dat het gebruik van *plasma-derived* biestvervanger (gemaakt van bloedplasma) in vergelijking met gewone biest de kans op het ontwikkelen van paratuberculose aanzienlijk verkleinde [63]. Nog weer een eerdere studie (2008) vergeleek het effect van biest afkomstig van een enkel moederdier met gepoolde biest en biest-vervanger. Het effect van biest op het ontwikkelen van een Map-infectie bleek klein te zijn. Biest van alleen het eigen moederdier heeft volgens het onderzoek de voorkeur [64].

Een positief effect op Map-infectie werd ook aangetoond in een experiment waarbij biest zonder Map vergeleken werd met Map gecontamineerde biest (van geïnfecteerde moederdieren). Kalveren uit de tweede groep lieten een hogere g-IFN en een sterkere humorale immunrespons zien, maar raakten veel meer besmet met de bacterie [65].

Het effect van biestvoeding op vaccinatie werd onderzocht met het Bacillus Calmette-Guérin (BCG) vaccin bij runderen en werd ook bevestigd met een parallelle ovalbumine vaccinatie. BCG is een vaccin tegen tuberculose dat gemaakt wordt van de levende, verzwakte *Mycobacterium bovis*, die bij runderen voorkomt. Uit het onderzoek bleek dat voeding van biest van een gevaccineerde moeder de aanmaak van antilichaam in het kalf remt in vergelijking met dieren die geen biest hadden gehad. De cellulaire immunrespons is daarentegen niet afhankelijk van de vaccinatie van de moederdieren waarvan de biest afkomstig is [66]. Met *Mycobacterium bovis* geïnfecteerde runderen scheiden *Mycobacterium bovis* uit in hun biest.

Wanneer reeds geïnfecteerde (huidtest positieve) dieren worden gevaccineerd, leidt dit tot verlaging van aantallen uitgescheiden *Mycobacterium bovis* aangetoond via PCR. Deze koppels zijn vergeleken met eenzelfde soort koppel dat niet werd gevaccineerd [67].

Een IgA-fractie geïsoleerd uit biest van een gezond mens is in staat bij muizen het aantal kolonievormende eenheden *Mycobacterium tuberculosis* in de longen te verminderen. Deze biest moet wel reactief zijn tegen tuberculoseantigenen, mogelijk vanwege tuberculoselatentie of BCG-vaccinatie. In dit experimentele onderzoek bij muizen werd de biest via de neus toegediend, direct in de luchtpijp [68].

Detectie met PCR van *Mycobacterium bovis* in biest van positieve runderen (aangetoond met *post-mortem* onderzoek en huidtest), liet zien dat 62% van de biestmonsters PCR-positief waren. Dit is aanzienlijk hoger dan onderzoek in melkmonsters (18%). Long- en lymfeknopen bleken bij deze dieren PCR-negatief te zijn. *Mycobacterium bovis* in biest kan daarom een afspiegeling zijn van gereactiveerde *Mycobacterium bovis* [69]. Voor Map zijn dergelijke gegevens niet bekend, maar er wordt wel aangenomen dat biestbesmetting wordt veroorzaakt vanuit de macrofagen uit de melkklieren van het geïnfecteerde rund [70]. Hiermee is besmette runderbiest een potentieel gevaar voor geitenlammeren indien die wordt gebruikt als biestvervanger.

Mogelijkheden voor hygiëniseren van biest

Naast het inschatten van de risico's aan de hand van deze literatuurstudie en het mogelijk onderzoeken van de risico's in geitenbiest, kan er ook gedacht worden aan het "schoonmaken" of hygiëniseren van biest ten aanzien van Map. In deze paragraaf worden een aantal opties besproken.

Toevoeging van 1% sodium dodecyl sulfaat (SDS) aan geitenbiest veroorzaakt een aanzienlijke reductie van kolonievormende eenheden van typische melkreporter micro-organismen. SDS heeft echter geen invloed op de immunologische kwaliteit die van belang is bij de overdracht op pasgeboren geiten [71]. De invloed op Map is echter niet onderzocht.

Het is mogelijk om geitenbiest te behandelen zodat aantallen bacteriële kiemen afnemen zonder verlies aan IgG inhoud. Entero's en lactobacilli werden gereduceerd tot niet-detecteerbare niveaus terwijl andere bacteriën, zoals lactococci en enterococci, twee tot vier logs reductie gaven. Behandelingen die in efficiëntie niet significant van elkaar verschillen zijn een hittebehandeling van een zestig minuten op 56 graden Celsius of dertig minuten op 63 graden Celsius en een 100% zuurstofbehandeling onder druk (500 Mpa) gedurende tien minuten op 20 graden Celsius. [72].

Hittebehandeling van geitenbiest (dertig minuten op 56 graden Celsius) verlaagt een aantal immunologische parameters bij biestgevoede geitenlammeren, zoals IgG serum concentratie, maar heeft geen effect op de klinische status of productie [73].

Het UV-bestralen van melk is geen alternatief voor pasteurisatie om Map-besmetting te verlagen [74].

Levende paratuberculosebacteriën in bloed, melk en kaas kunnen worden aangetoond met een op bacteriofagen (virus van bacteriën) gebaseerde methode [2-9]. Deze is ook te gebruiken om killing-efficiëntie van UV van Map in melk te bepalen [75].

Toevoeging van een protease inhibitor (trypsine-inhibitor) aan biest, om afbraak van eiwit te beperken, gaf een verbetering noch verslechtering aan de immuunstatus van geitenlammeren [76].

Het effect van sterilisatie op geitenmelk is geëvalueerd voor de kiemen *Mycoplasma agalactiae* en *Mycoplasma mycoides* subspecies *capri*. Hitte-regimes van 56 tot 60 graden Celsius gedurende 0, 30, 60, 90 of 120 minuten verminderden het aantal *M. agalactiae* wel, maar niet tot 100%. Dat geldt ook voor *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri*. Een uitzondering was het regime van 60 graden Celsius, langer dan zestig minuten, waarna geen levende bacteriën meer werden aangetoond [77]. De vraag is of dit representatief is voor Map.

In een vergelijking tussen gevriesdroogde runderbiest en normale geitenbiest bleek dat gevriesdroogde runderbiest leidde tot een hogere eiwit/DNA(RNA) ratio in dunne darm weefsel (jejunum) en een hogere eiwit/RNA ratio in spierweefsel. Dit suggereert dat gevriesdroogde runderbiest een hogere eiwitopname geeft in darm en spierweefsel dan niet-gevriesdroogde geitenbiest in de eerste uren na de geboorte [78].

4 Aanpak beheersing paratuberculose

Paratuberculose is een lastig te bestrijden aandoening waarvan de schade niet alleen van bedrijf tot bedrijf varieert, maar die ook sectorbrede indirecte (imago)schade veroorzaakt. Een aanpak die gegarandeerd leidt tot een paratuberculosevrij bedrijf bestaat niet, en daarmee is eradicatie op dit moment ook geen reële oplossing. Bij de beheersing en op termijn de bestrijding van paratuberculose komt in de eerste plaats het reduceren van deze aandoening (ziekteverschijnselen) en daarna het terugdringen van de verwekker (Map).

4.1 Melkvee

In Europees verband zijn er nog geen regels gemaakt ten aanzien van paratuberculose. Een aantal Europese landen, zoals Denemarken, Duitsland, Engeland, Frankrijk en Luxemburg, heeft een programma opgesteld voor de bestrijding van paratuberculose. In België loopt een programma dat is geënt op het PPN in Nederland, en dit wordt begeleid door Diergezondheidszorg Vlaanderen (DGZ) en Arsia. In Noorwegen en Zweden is een meldplicht voor paratuberculose, waarbij de besmette bedrijven worden geruimd. Ook de zuivel in Nederland gestart met de bestrijding van paratuberculose. Het eerste georganiseerde controleprogramma voor paratuberculose in de Nederlandse rundveehouderij dateert uit de 40'er jaren van de vorige eeuw [79]. Deze aanpak was gebaseerd op het periodiek testen van runderen vanaf achttien maanden leeftijd, afvoer van test-positieve runderen naar de slacht en een verbod op afvoer van test-positieve runderen naar andere rundveebedrijven. Vanaf 1979 werd ook het jongvee tussen vier en achttien maanden getest [80]. Vanwege tegenvallende resultaten in de bestrijding van paratuberculose werd in 1984 een vaccinatieproef opgezet [81]. Vaccinatie verminderde de schade door klinische paratuberculose, maar voorkwam de overdracht van de infectie onvoldoende om verspreiding van de infectie te beheersen [82,83].

In 1998 werd een vrijwillig paratuberculoseprogramma opgezet [79] dat tegenwoordig bekend is onder de naam Intensief Programma Paratuberculose (IPP). Doel van dit IPP is allereerst de eliminatie van de infectie op bekend besmette bedrijven [79]. Daarnaast kunnen met het programma niet-geïnfecteerde runderen beschikbaar worden gesteld voor handel tussen bedrijven. Zodoende kan de verspreiding van de infectie tussen bedrijven geremd worden [84,85]. Het IPP bevat daartoe een component voor de aanpak op bekend besmette bedrijven (bedrijven met 'status 3') en een component voor de certificering en bewaking van onverdachte bedrijven ('status 6' tot en met 'status 10', waarbij 'status 10' ook wordt aangeduid als 'paratuberculosevrij'). In 1998 nam 6% van de 29,840 Nederlandse melkveebedrijven deel aan het IPP [79]. Dit percentage is constant gebleven tot en met 2005, en is vervolgens gedaald [86].

In 2006 werd het Paratuberculose Programma Nederland (PPN) geïntroduceerd, naast het IPP. Het programma werd gestart omdat beheersing van paratuberculose in de Nederlandse melkveehouderij niet kon worden behaald met het IPP alleen, gezien het lage percentage melkveehouders dat aan het IPP deelnam. Op basis van de resultaten die in 2006-2007 in het PPN bereikt werden [87], werd deelname aan het programma vanaf 2008 gestimuleerd door de zuivelondernemingen [88]. Vanaf 2010 maakt deelname aan PPN of het IPP deel uit van de leveringsvoorwaarden van de Nederlandse zuivelondernemingen. Hierdoor nam de deelname aan

PPN sterk toe. In 2012 nam 97% van de Nederlandse melkveehouders deel aan PPN [89]. Hiermee heeft de Nederlandse melkveehouderij een wereldwijde koppositie in deelname aan paratuberculose-beheersingsprogramma's bereikt.

4.1.1 Paratuberculose Programma Nederland

Het doel van PPN is paratuberculose in de Nederlandse melkveehouderij te beheersen. Daarvoor is het doel dat de tankmelk die wordt afgeleverd aan zuivelondernemingen een zo laag mogelijke concentratie *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* organismen heeft [90-92]. Om de concentratie Map in tankmelk te reduceren is het niet noodzakelijk dat de infectie op deelnemende bedrijven geheel geëlimineerd wordt. Daarom zijn de kosten van deelname aan PPN veel lager dan de kosten van deelname aan het IPP [92].

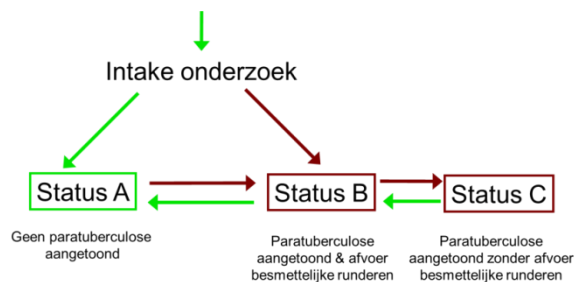
Melkveebedrijven die deelnemen aan PPN ontvangen een status gebaseerd op koppelonderzoeken (Figuur 1). Een koppelonderzoek bestaat uit een onderzoek van alle melkgevende runderen met een individuele melk-ELISA op afweerstoffen tegen paratuberculose¹. Aan de veehouders wordt de mogelijkheid geboden om positieve ELISA-resultaten te bevestigen met mestonderzoek (qPCR of kweek; de uitslag van het mestonderzoek is dan leidend). Bedrijven zonder test-positieve runderen ontvangen de status A. Test-positieve bedrijven krijgen status B als alle test-positieve runderen zijn afgevoerd, of status C als test-positieve runderen nog aanwezig zijn. Het intake-onderzoek bestaat uit één koppelonderzoek². Het bewakingsonderzoek van status A bestaat uit tweejaarlijkse koppelonderzoeken³. Op bedrijven met status B en C wordt jaarlijks een koppelonderzoek uitgevoerd. Deelnemende veehouders worden gestimuleerd om preventieve maatregelen in hun bedrijfsvoering te treffen.

De resultaten van PPN sluiten aan bij het pakket van eisen dat vooraf was gesteld [93]. Evaluatie van de resultaten van PPN over de periode 2006-2013 laat zien dat het percentage bedrijven met status A stabiel is in de tijd. In het laatste kwartaal van 2014 had 75% van de deelnemende bedrijven status A [94].

¹ Als alternatieve koppelonderzoeken worden ook toegestaan: een ELISA bloedonderzoek op afweerstoffen tegen Map bij alle runderen van drie jaar en ouder of een individueel mestonderzoek (kweek of PCR) van alle runderen van twee jaar en ouder.

² In de intakeprocedure krijgt een bedrijf met runderen met afweerstoffen tegen Map tijdens het bevestigingsonderzoek status B. Als het bevestigingsonderzoek een negatieve uitslag oplevert bij alle runderen waarbij afweerstoffen tegen Map waren aangetoond, wordt de status B omgezet in status A.

³ Op status B en C bedrijven die als koppelonderzoek een individueel mestonderzoek (kweek of PCR) van alle runderen van twee jaar en ouder uitvoeren is het interval tussen de koppelonderzoeken twee jaar.



Figuur 1. Overgangen tussen status A, B en C in PPN.

4.1.2 Aanpak in rundveehouderij als voorbeeld voor geitenhouderij

Bij de ontwikkeling van PPN zijn de volgende stappen van belang gebleken:

Identificatie van belanghebbende partijen en drivers.

Bij de opzet van PPN bleek het belangrijk om te onderkennen dat de belangen van individuele veehouders kunnen verschillen van het belang van het collectief van veehouders en van de zuivelondernemingen [86]. Zowel individuele veehouders, het collectief van veehouders, als zuivelondernemingen hebben belang bij het borgen van continue toegang tot de internationale afzetmarkt van zuivel. Een beheersingsprogramma voor paratuberculose kan deze continue toegang ondersteunen. Individuele veehouders hebben echter alleen een stimulans tot deelname aan een beheersingsprogramma, als die deelname ook voor hun individuele bedrijf economisch voordeel biedt. Een kosten-batenanalyse liet zien dat deelname aan PPN voor individuele melkveehouders alleen aantrekkelijk was als daar een economische stimulans voor werd ingericht [95]. De Nederlandse zuivelondernemingen hebben zo'n stimulans gecreëerd door deelname aan PPN op te nemen in hun leveringsvoorwaarden. Een mogelijke alternatieve benadering zou een melkprijsdifferentiatie tussen bedrijven met status A en bedrijven met status B of C van € 0.005 per liter melk. Het zou voldoende zijn geweest om deelname aan het intake-onderzoek voor individuele melkveehouders te rechtvaardigen [95].

Formuleren van doelstelling

Wereldwijd is het doel van bestrijdingsprogramma's voor paratuberculose op rundveebedrijven in de laatste decennia verschoven van eradicatie van Map, naar beheersing van de infectie. Mogelijke doelstellingen bij beheersing zijn onder meer (i) reductie van economische schade van paratuberculose op het primaire bedrijf, (ii) reductie van de transmissie van Map tussen bedrijven, (iii) verlaging van de prevalentie, (iv) verlaging van de concentratie Map in afgeleverde melk, en (v) reductie van blootstelling van mensen aan Map. Een scherp geformuleerde doelstelling ondersteunt beleidsmakers bij keuzes tussen alternatieve beheersingsstrategieën. Als bijvoorbeeld een reductie van Map in melk beoogd wordt, is naast beheersing van Map-infecties op primaire bedrijven, ook

een reductie van de mestbesmetting bij de melkwinning en pasteurisatie relevant. De beperkte deelname aan het IPP illustreert dat het belangrijk is dat de gekozen doelstelling niet alleen relevant is voor het collectief van dierhouders (zoals het doel de verspreiding van Map tussen bedrijven te remmen door het in de handel beschikbaar komen van paratuberculose-onverdachte dieren), maar ook aansluit bij de behoeften van het merendeel van individuele dierhouders.

Formuleren van beheers strategieën

Bij de ontwikkeling van PPN werd een uitgebreid onderzoeksprogramma opgezet om bruikbare beheersingsstrategieën te formuleren, kennislacunes te identificeren en te dichten met aanvullend onderzoek. De kosten-bateneffectiviteit van de potentieel beschikbare beheersingsstrategieën werd geëvalueerd met een modelstudie waarin epidemiologische en economische modellen werden gecombineerd [90].

Fasen in uitrol van het programma

Na de initiatie van PPN in 2006 werd de deelname aan het programma vanaf 2008 actief door de zuivelondernemingen gestimuleerd, en vanaf 2010 opgenomen in hun de leveringsvoorwaarden. Een geleidelijke overgang van vrijwillige deelname naar verplichte deelname biedt beleidsmakers de mogelijkheid om verwachtingen over de uitkomsten van het programma te managen, op basis van de ervaringen die op bedrijven 'in het veld' werden opgedaan in de vrijwillige fase. Een vergelijkbare aanpak wordt thans ook gevolgd bij het opzetten van een collectieve aanpak van paratuberculose in Ierland⁴.

Evaluatie en bijstelling programma

De beheersing van paratuberculose vergt tijd. Een afname van het aantal nieuwe besmettingen door beheersmaatregelen wordt pas in een volgende generatie dieren zichtbaar, omdat de meeste besmette dieren reeds op jonge leeftijd werden besmet. Evaluatie van het verloop van het programma wordt daarom mogelijk vanaf ongeveer vijf jaar nadat de meerderheid van bedrijven een beheersingsprogramma is ingestroomd. Op basis van de overgangen van deelnemende bedrijven tussen de verschillende statussen en gegevens over de bedrijfsvoering van deelnemende bedrijven (zoals verplaatsingen van dieren tussen bedrijven) kunnen zo nodig aanbevelingen worden geformuleerd voor verdere optimalisatie van het programma.

Geconcludeerd mag worden dat in de afgelopen zeven decennia ruime ervaring is opgedaan met de bestrijding van paratuberculose in de Nederlandse rundveehouderij. De opgedane ervaringen tonen aan dat een eenzijdige benadering niet succesvol was, zoals een eenzijdige benadering gericht op

⁴ <http://www.animalhealthireland.ie/page.php?id=30>

test-en-afvoer, een eenzijdige benadering gericht op vaccinatie, of een eenzijdige benadering gericht op eliminatie van de infectie. De opgedane ervaringen hebben uiteindelijk geleid tot een beheersingsprogramma waaraan meer dan 95% van de Nederlandse melkveehouders deelnemen, en dat voldoet aan de verwachtingen van de diverse stakeholders. De stappen die gevolgd zijn om een dergelijk beheersingsprogramma op te zetten zijn eveneens van belang bij de opzet van een collectief beheersingsprogramma voor paratuberculose in de Nederlandse geitenhouderij.

4.2 Kleine herkauwers

Australië heeft een reeks van opeenvolgende programma's gekend om paratuberculose bij schapen aan te pakken. In 1998 is men gestart met het *National Ovine Johne's Disease Control and Evaluation Program (NOJDP)* met een financiering van 40 miljoen Australische dollars, dat in 2004 is overgegaan in het *National Approach to the Management of Ovine Johne's Disease in Australia (NAOJD)*. Van 2007 tot 2012 was het *OJD Management Plan* van kracht, dat is overgegaan in het *OJD Management Plan 2012-2017*. Het initiatief kwam aanvankelijk zowel vanuit de sector als van de federale en nationale overheden en wordt tot op de dag van vandaag gerund door Animal Health Australia [96]. De overheid heeft zich geleidelijk teruggetrokken, en momenteel is het programma ook volledig gefinancierd vanuit de sector. Tijdens de eerste periode (NOJDP) werden onder andere op bedrijfsniveau verschillende eradicatiestrategieën getest, waaronder vaccinatie. Verder werd de verspreiding binnen een kudde gemonitord, werden bestaande en nieuwe testen geëvalueerd, en zijn er slachthuissurveillance-technieken toegepast, waarbij ook gekeken werd naar productieverliezen ten gevolge van paratuberculose. Tevens werden prevalenties en prevalentieniveaus bepaald, zones geïdentificeerd en de bewegingsvrijheid van schapen uit (zwaar) besmette kuddes of gebieden aan banden gelegd.

NOJDP was een voornamelijk op onderzoek en ontwikkeling gebaseerde fase. In de daaropvolgende fase (NAOJD) waren de doelen om vrije gebieden vrij te houden, prevalenties van zeer lage, lage en middelmatige gebieden zo te houden of te verminderen en hoge prevalenties te laten dalen. Het *OJD Management Plan* is gericht op risicominalisering van gebieden die vrij zijn en actief ingrijpen bij incidenten, prevalentie verminderen met behulp van vaccinatie en begrazingsmanagement, actieve bio-veiligheidsplanning op bedrijfs- en regioniveau en marktbevordering voor bedrijven die deelnemen aan het *Assurance Based Credit (ABC) Schema*. Scores worden daarbij bepaald aan de hand van bedrijfs- of groepskenmerken, gebiedsprevalentie, testresultaten en vaccinatie. Schapen uit een generatie die volledig gevaccineerd was krijgen een vaccinatiestatus (Second Generation Approved Vaccinate Flocks). Momenteel wordt gefocust op het minimaliseren van infectierisico in vrije gebieden/kuddes en het indammen van de financiële impact op bedrijfs- en

sectorniveau. Daarnaast is er het Sheep Market Assurance Plan (SheepMAP), waarbij bedrijven een status kunnen krijgen.

In Australië zijn verschillende teststrategieën onderzocht [97]. Er zijn verschillende testen mogelijk. Bijvoorbeeld minimaal 500 schapen ouder dan twee jaar (en minimaal twee jaar op het bedrijf) 24 maanden lang aan de slachtlijn laten onderzoeken (abattoir 500 status). Hetzelfde maar dan met 150 schapen de afgelopen 12 maanden (abattoir 150 status). 350 representatieve schapen (ouder dan 2 jaar) testen met gepoolde mest cultuur van pools tot maximaal 50 schapen (PFC 350 test) en na 12 maanden herhaald (PFC 350 Eligible for ABC credit). Voor een vaccinatiestatus geldt: schapen uit een generatie die volledig gevaccineerd was (Second Generation Approved Vaccinate Flocks). Daarnaast is er het Sheep Market Assurance Plan (SheepMAP), waarbij volgens het 98% zekerheidsprincipe met een minimale prevalentie van 2% in principe minimaal 875 schapen van ouder dan twee jaar getest (gepoolde mest of bloed) moeten worden (250 voor bewaking).

4.3 Vaccinatie

De effecten van vaccinatie tegen paratuberculose zijn uitgebreid samengevat in een meta-analyse [98]. Hierin zijn studies met experimentele en commercieel beschikbare, levend (verzwakte) en dode vaccins, van verschillende producenten in verschillende landen in verschillende proeven bij runderen, schapen en geiten vergeleken. Verreweg de meeste studies laten een positief effect zien. Effecten zijn samengevat als effecten op de productie, epidemiologie en pathologie. Ze worden geformuleerd als afname van schade of besmetting van de omgeving. Voor geiten werden gemiddelde afnames van schade en besmetting gevonden van 45,1% voor productie (verliezen gemeten als aantallen klinische gevallen of sterfte), 79,3% van epidemiologie (microbiologisch besmettingsrisico gemeten in aantallen isolaties van de paratuberculosebacterie in mest of weefsel) en 94,8% van pathogenese (gemeten in effect op weefselniveau).

In Noorwegen is in 1967 een vaccinatieprogramma tegen paratuberculose in geiten gestart. Hierbij zijn circa 131.000 geiten gevaccineerd (1967-1982) en is op 15.219 zowel gevaccineerde als niet-gevaccineerde geiten sectie verricht. Daaruit is gebleken dat de prevalentie van geïnfecteerde dieren van 53% naar 1% was teruggedrongen [99]. In IJsland is vaccinatie vanaf 1966 verplicht, nadat uit onderzoek was gebleken dat sterfte ten gevolge van paratuberculose bij schapen met 94% kon worden teruggebracht [100].

Een vijfjarige vaccinatiestudie in Australische schapen toonde aan dat het Gudair® vaccin de sterfte ten gevolge van paratuberculose met 90% reduceert, evenals fecale uitscheiding in het eerste jaar na vaccinatie. De prevalentie van uitscheiders van zowel dieren als Map nam tevens af met 90%,

maar sommige gevaccineerde dieren bleven hoge uitscheiders. Bij sectie bleken deze dieren de multi bacillaire variant van de ziekte te hebben [101].

Vanwege tegenvallende resultaten in de bestrijding van paratuberculose in de Nederlandse melkveehouderij werd in 1984 een vaccinatieproef opgezet [81]. Hiervoor is een aantal jaren een water-in-olie emulsie-vaccin beschikbaar geweest, met 2,5 mg/ml hitte-gedode *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* bacteriën stam 3 en 5 met als conserveringsmiddel 0,01% merthiolaat vanuit het CVI. Vaccinatie verlaagde het aantal klinische gevallen, het aantal subklinisch geïnfecteerde runderen en het aantal test-positieve runderen, en was economisch aantrekkelijk [81]. Vaccinatie voorkwam overdracht van de infectie echter onvoldoende om verspreiding van de infectie te beheersen [82,83]. Op de vaccinerende bedrijven bleven geïnfecteerde dieren voorkomen [79,82]. Tevens is eind jaren '90 binnen de rundveehouderij onderzoek gedaan naar de werking van het Spaanse paratuberculosevaccin Gudair®. Voor dit onderzoek waren een kleine 1000 vaccinatiedoses per jaar nodig. In deze periode werden echter jaarlijks meer dan 50.000 doses Gudair® in Nederland afgenomen, met name in de melkgeitenhouderij. Bij de beëindiging van het project in 2000 was het vaccin ook voor melkgeitenhouders niet meer beschikbaar. Na de relatief korte tijd van vaccineren werden melkgeitenhouders al snel weer geconfronteerd met de zichtbare ziekteverschijnselen van paratuberculose en de daarbij behorende economische gevolgen. Na een periode van vrijstelling (2004-2006), was Gudair® officieel niet meer toegestaan, maar in 2012 (tot 2014) is er wederom een vrijstelling.

4.3.1 Gudair® vaccin

Gudair® bevat geïnactiveerd (dood) *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* stam 316F gecombineerd met een dragerstof (adjuvans). Deze dragerstof, het incompleet Freund's adjuvans, is een stof die bedoeld is om een goede immunrespons op te wekken. Het neveneffect is een lokale weefselirritatie; hierdoor kunnen spuitplekken ontstaan. Middels actieve immunisatie beschermt Gudair® tegen de ontwikkeling van klinische paratuberculose en bewerkstelligt daarmee een afname van uitscheiding van Map in de mest, omdat gevaccineerde geiten volgens de bijsluiter minder frequent/lagere concentraties uitscheiden. Inzet van het vaccin op een gehele populatie (bedrijf, streek) zou volgens de producent een bijdrage kunnen leveren aan:

- een significante afname van het aantal klinisch aangetaste dieren in de tijd;
- een afname in het aantal doden veroorzaakt door paratuberculose;
- een graduele afname in de prevalentie van infectie binnen een kudde;
- een waarneembare afname van uitscheiding in de mest.

Literatuurscan paratuberculose

Daarnaast kan het geïnactiveerde (dode) vaccin geen introductie van paratuberculose veroorzaken en is daarmee relatief veilig. Een éénmalige dosis van 1 ml voor zowel jonge dieren (twee tot drie weken oud) als volwassen dieren is voldoende, en daarmee is het gebruiksgemak groot.

Of vaccinatie met Gudair® de intradermale vergelijkende huidtest op rundertuberculose (veroorzaakt door *Mycobacterium bovis*) kan beïnvloeden is een aandachtspunt. Recent onderzoek bij runderen, waarbij *Mycobacterium bovis*-infectie gesimuleerd werd door vaccinatie, heeft aangetoond dat de sensitiviteit van de huidtest wel afneemt in combinatie met de tuberculose-simulatie. Bij gebruik van enkel Gudair® vaccinatie neemt de gevoeligheid echter niet af [102]. Ofwel: bij Gudair® gevaccineerde dieren die geen tuberculose hebben is het resultaat van de huidtest betrouwbaar, maar in geval van *Mycobacterium bovis*-vaccinatie (model voor infectie) is het resultaat gecompromitteerd. Gudair® beïnvloedt niet de gevoeligheid en specificiteit van speciale rundertuberculose testen (serologie of interferon gamma) [102,103]. Een gelijksoortige studie bij geiten demonstreerde dat het gebruik van een geïnactiveerd paratuberculosevaccin geen vals positieve resultaten oplevert bij de intradermale tuberculose test als die dieren op dat moment ouder dan twintig maanden zijn [104]. Deze vaccins werden toegediend aan geiten jonger dan een maand oud, in een rundertuberculosevrije kudde en de gebruikte testmethode hierbij was een interferon (IFN)-gamma assay.

Hoewel Gudair® positieve effecten laat zien bij geiten, is op te merken dat prikincidenten bij mensen vervelende gevolgen kan hebben. De entstof is bij zelfinoculatie erg gevaarlijk, en kan medisch ingrijpen noodzakelijk maken. Het bedrijf dat Gudair® op de markt heeft gebracht heeft hierover daarom een factsheet gemaakt [105].

Op 20 juni 2012 is het gebruik van Gudair® voor schapen en geiten middels een vrijstellingsregeling toegestaan tot 1 oktober 2014 [106]. De noodzaak voor deze vrijstelling is het College ter Beoordeling van Geneesmiddelen (Medicines Evaluation Board, CBG-MED) ter ore gekomen tijdens een lezing van de GD. De GD heeft vervolgens een motivatie geformuleerd.

4.3.2 Nieuwe ontwikkelingen

Uitgaande van bovenstaande argumenten zou de ontwikkeling van een nieuw vaccin gewenst zijn om de nadelen van het huidige vaccin op te lossen. Er is een aantal strategieën beschreven in de recente literatuur dat in sommige gevallen ook geëvalueerd is in experimentele Map-infectiemodellen bij de geit. Deze nieuwe vaccins zijn onder te verdelen in twee groepen: levende verzwakte Map in verschillende toedieningsvormen en sub-unit vaccins in verschillende toedieningsvormen.

Levend verzwakte Map vaccins

In het Amerikaanse 'Johnes Disease Integrated Program' zijn de afgelopen jaren via genetische modificatietechnieken levend verzwakte Map-stammen ontwikkeld, waarvan een vijftal is getest in twee studies met een Map-infectiemodel voor geiten. In één studie is subcutaan gevaccineerd met de mutantstam van Map, en is de effectiviteit vergeleken met het in de Verenigde Staten geregistreerde Mycopar[®] vaccin (vergelijkbaar met Gudair[®]), en zonder behandeling. De geiten werden zes en drie weken voor de infectie gevaccineerd. Uit de resultaten blijkt dat toen de studie na circa zeven maanden beëindigd werd er minder Map in de darmwand aangetoond kon worden bij dieren met het nieuwe vaccin. Daarnaast was de uitscheiding van Map in de mest wel gereduceerd ten opzichte van de onbehandelde groep, maar was dit vergelijkbaar met het Mycopar[®] vaccin [107].

Deze benadering heeft echter wel nadelen. De problematiek met betrekking tot de kruisreacties met de tuberculosedagnostiek wordt niet opgelost. Daarnaast is de registratie van een genetisch gemodificeerd levend bacterieel vaccin zeer complex, dan wel onmogelijk binnen de huidige regelgeving. Een ander nadeel van de experimentele benadering is dat dit niet representatief is voor de praktijk waar op een besmet bedrijf dieren geboren worden in een besmet milieu.

In een andere studie werden geiten tweemaal oraal gevaccineerd met genetisch verzwakte Map-bacteriën, een maand voor ze experimenteel geïnfecteerd werden. Deze vorm van vaccinatie leverde geen bescherming op tegen experimentele infectie, maar wel vals positieve huidtesten, zoals gebruikt voor de tuberculosedagnostiek [108].

Sub-unit vaccins

Sub-unit vaccins bevatten alleen één of enkele eiwitten van Map en dus geen hele bacteriën. Bovendien worden bij de subcutaan toegediende varianten van dit soort vaccins andere adjuvans hulpstoffen gebruikt, waardoor de bijwerkingen in het algemeen veel minder groot zijn. In een recente studie waarin de geit als model wordt gebruikt, is een aantal eiwitten van Map ingebouwd in een genetische gemodificeerde salmonellabacterie en dit is als een oraal vaccin toegepast. De salmonella wordt hierbij gebruikt om het afweersysteem te stimuleren. De effectiviteit van deze vaccins bleef echter achter bij de bescherming, na gebruik van wildtype Map-bacteriën [109]. Een meer conventionele studie, waarin geiten gevaccineerd werden met vier verschillende eiwitten van Map in een relatief weefselvriendelijk adjuvans (DDA), laat een significante verlaging zien van het aantal Map in darmweefsel acht maanden na vaccinatie [110]. Uitscheiding van bacteriën in de mest en interferentie met tuberculosedagnostiek werden in deze studie niet gemeten. Ook was er geen controlegroep met het bestaande vaccin, zodat deze vergelijking niet gemaakt kan worden. In deze studie werden de geiten ook zes weken voor blootstelling gevaccineerd.

In Nederland is een experimenteel sub-unitvaccin tegen Map ontwikkeld op basis van één eiwit van Map. Dit vaccin is getest in experimentele infectiemodellen met kalveren [111] en als therapeutisch vaccin in volwassen koeien met een vastgestelde veldinfectie met Map [112]. Het vaccin geeft geen interferentie met de tuberculosedagnostiek. Ook een test die veldinfectie onderscheidt van vaccinatie is mogelijk [113]. Het vaccin is niet getest op geiten met (experimentele) Map-infectie maar de afweerreactie die geiten maken tegen het vaccin is wel vergelijkbaar met die van kalveren [114].

4.4 Fytotherapie

Fytotherapie ('behandeling met planten'), ook wel kruidengeneeskunde genoemd, is het behandelen van gezondheidsklachten en ziekten met plantaardige middelen. In de kruidengeneeskunde gebruikte plantaardige middelen noemt men fytotherapeutica of kruidengeneesmiddelen. De definitie van de Nederlandse Vereniging voor Fytotherapie luidt: 'Geneesmiddelen die als actieve ingrediënten uitsluitend planten, delen van planten of plantenmaterialen of combinaties daarvan bevatten, in ruwe of bewerkte staat' [115]. Volgens deze definitie valt therapeutisch gebruik van geïsoleerde inhoudsstoffen van planten uitdrukkelijk niet onder de fytotherapie. Veel fytotherapeutische kennis is gebaseerd op eeuwenlang behouden en doorgegeven gebruiken. De farmacie is ontsprongen uit de kruidengeneeskunde.

Hoewel kruiden niet geregistreerd zijn als medicijn met een genezende werking, zouden ze wellicht een positieve bijdrage kunnen leveren aan de gezondheid van het dier. Ze zouden de weerstand en het herstellend vermogen (de veerkracht) van de gastheer (de geit) mogelijk kunnen verhogen. Deze paragraaf beperkt zich daarbij tot de mogelijke rol van kruiden, maar het moge duidelijk zijn dat kruiden naast andere interventiestrategieën gebruikt kunnen worden, en niet in plaats van. Verbetering van diergezondheid moet in eerste instantie gezocht worden in verbetering van de hygiëne en gericht management.

4.4.1 Werking van kruiden

In 2009 is een eindrapportage van het Fyto-V project 'Ontwikkelen van fytotherapie als middel bij het reduceren van en/of behandelen van dierziekten' opgeleverd door het RIKILT - Instituut voor Voedselveiligheid. De belangrijkste conclusies hieruit zijn hier samengevat. De meeste op de markt aanwezige kruidenproducten claimen een verbetering van de gezondheidsstatus en de weerstand. Dit effect wordt vaak toegeschreven aan het feit dat de meeste geneeskrachtige kruiden een reeks van fenolen en/of antioxidanten bevatten, maar ook stoffen met een modulerend effect op het afweersysteem, die deze positieve effecten teweeg zouden kunnen brengen. Het positieve effect op

de darmflora –dat zich uit in de verbetering van de darmgezondheid bij pluimvee en varkens– wordt ook wel aan de lichte antimicrobiële werking van vele planteninhaltsstoffen toegeschreven [116]. Om de werkzaamheid te testen zijn zowel laboratoriumproeven als dierstudies nodig. Helaas zijn er nog weinig geschikte onderzoeksparameters om de werking van kruidenmiddelen objectief aan te tonen onder praktijkomstandigheden [116]. Adaptogenen (of adaptogene stoffen) verwijzen naar het farmacologisch concept waarbij toediening resulteert in stabilisatie van fysiologische processen en de bevordering van homeostase, bijvoorbeeld verminderde cellulaire gevoeligheid voor stress. De term 'adaptogeen' is sinds 1998 door de Amerikaanse Food and Drug Administration toegestaan als een functionele claim voor bepaalde producten en wordt ook geaccepteerd door het Europees Geneesmiddelenbureau. Voorbeelden van planten waaraan deze effecten worden toegeschreven zijn Ginseng (wortels van soorten uit het geslacht *Panax* in de klimopfamilie), *Bacopa*, *Eleuthero*, *Cordyceps*, en *Ashwagandha* *Rhodiola* (ref). Voorbeelden van kruiden met een mogelijk immuunmodulerende werking zijn medicinale schimmels (*Reishi*, *Maitake*, *Shitake*, *Turkey tail*, *Cordyceps*, *Hime-matsutake* en *Chaga*), *Echinacea*, *Astragalus*, Ginseng polysacchariden en saponinen (ref). Het gastro-intestinale systeem speelt een centrale rol in de gezondheid op niveau van de verschillende systemen. Verschillende kruiden hebben een ontstekingsremmende activiteit in verschillende diermodellen laten zien. Wellicht een interessant voorbeeld is *Boswellia* (*Boswellia serrata*). De veiligheid en effectiviteit van *boswellia*-extracten werden vergeleken met mesalazine. Artsen schrijven mesalazine voor bij de chronische darmontstekingen (*colitis ulcerosa*, zoals *proctitis ulcerosa*, en bij de ziekte van Crohn). De *boswellia* extracten en mesalazine werden vergeleken in een acht weken gerandomiseerde dubbelblindstudie (noch de arts, noch de patiënt weet welke behandeling is ingesteld). De auteurs concludeerden dat *boswellia*-extract net zo effectief was als mesalazine [117].

4.4.2 Kruiden met een antibacteriële activiteit tegen de paratuberculose bacterie

De antimicrobiële activiteit van achttien van nature voorkomende stoffen is geëvalueerd. Zes verbindingen bleken de groei van *Map* te remmen. Het effect is weergegeven in minimaal inhiberende concentraties (MIC), de laagste concentratie van een stof die de zichtbare groei van een micro-organisme remt. Het meest effectief was *trans-cinnamaldehyde* (MIC 25.9 µg/ml), gevolgd door *kaneelolie* (MIC 26.2 µg/ml), *oregano olie* (MIC 68.2 µg/ml), *carvacrol* (MIC 72.2 µg/ml), *2,5-dihydroxybenzaldehyde* (MIC 74 µg/ml) en *2-hydroxy-5-methoxybenzaldehyde* (MIC 90.4 µg/ml) [118]. Behalve *carvacrol*, een fenol, zijn drie van de vier meest effectieve stoffen aldehydes, wat suggereert dat de aldehydegroep belangrijk is voor de antibacteriële werking. *Carvacrol* is het

Literatuurscan paratuberculose

hoofdbestanddeel van oregano-olie, en trans-cinnamaldehyde, het hoofdbestanddeel van kaneelolie.

Op basis van literatuuronderzoek kunnen potentierijke kruidenextracten of etherische oliën geselecteerd worden. Onder relevante selectiecriteria vallen de antibacteriële werking tegen Map en/of een weerstandverbeterend effect op lokaal (darm) en/of systemisch niveau.

5 Algemene discussie, conclusies en aanbevelingen

Middels deze literatuurscan is getracht de beschikbare informatie over paratuberculose bij geiten te verzamelen. Ook is nagedacht over een doelstelling in de beheersingsaanpak tegen paratuberculose. Er is gekozen om de doelstelling van de melkveehouderij in Nederland te volgen. Die stelt dat het streven is naar een reductie van de gemiddelde concentratie Map-bacteriën in afgeleverde tankmelk. In de literatuurscan is een aantal hoofdlijnen gekozen te weten: 1) paratuberculose detectie; 2) erfelijkheid, leeftijdsresistentie, maternale immuniteit en biest; 3) aanpak paratuberculose; met daarin de mogelijkheden van 4) vaccinatie en 5) fytotherapie. Er is een aantal kennisleemtes duidelijk geworden. Onderzoek naar deze kennisleemtes om daarmee kansrijke interventiestrategieën te vinden om tot deze doelstelling te komen, worden nader bediscussieerd.

Paratuberculose detectie kan zoals uiteen gezet in paragraaf 2.1 op verschillende manieren plaatsvinden. Afhankelijk van het interventiedoel kan bijpassende diagnostiek gekozen worden. De kweek wordt beschouwd als de gouden standaard. Echter deze duurt lang (weken tot maanden) en kan door de intermitterende uitscheiding ook (onterecht) niets aantonen. Serologie is gemakkelijk, snel en goedkoop, maar heeft als nadeel dat er een zogenaamde lag-time is tussen het moment van besmetting en positief worden in de test. Dit komt door de aanvankelijk vertraagde aanmaak van antilichamen door het besmette dier. Daarnaast is de Nederlandse melkgeitenhouderij gewoon te vaccineren met het vaccin Gudiar®, en kunnen serologische testen geen onderscheid maken tussen vaccinreactie of besmetting. De kennisleemte die relatief gemakkelijk onderzocht kan worden is hoelang en hoe hoog de antilichaam reactie op vaccinatie is. Lammeren worden na vaccinatie voor een bepaalde periode gevolgd en regelmatig bemonsterd op antilichaamreactieniveau. Aangezien het een eenmalig vaccinatie betreft die meestal op jonge leeftijd toegediend wordt, is de verwachting dat de antilichaamtiter geleidelijk zal verdwijnen. Onderzoek van de GD ondersteunt deze suggestie. Na verloop van tijd zal de vaccinatietiter dusdanig gezakt zijn dat deze onder de detectiegrens van de gebruikte ELISA test valt. Vanaf dat moment kan deze ELISA weer ingezet worden in de opsporing van besmette dieren.

Omdat het onderzoek naar paratuberculose bij geiten niet altijd even uitgebreid is, is ervoor gekozen om indien relevant, ook informatie vanuit de rundvee- en schapenhouderij mee te nemen. Zo valt op dat als prevalenties bestudeerd worden, er aanzienlijke verschillen zijn tussen de diersoorten, maar ook tussen de landen. De gemiddelde prevalenties van paratuberculose bij runderen in Europa van circa 20% (minimaal 3 tot 5% [12]), en in Nederland van 2.7 tot 6.9% [13] lijken niet vergelijkbaar met de situatie bij geiten. Ondanks dat er geen gemiddelde berekend is, lijken de cijfers bij geiten lager te liggen. In Nederland is een binnenbedrijfsprevalentie van 4 tot 8% gevonden (door de GD).

Literatuurscan paratuberculose

Zowel binnen Europa als in Nederland zou op bedrijfsniveau op meer dan de helft van de rundveebedrijven paratuberculose voorkomen [12,13]. Bij geiten wordt gesproken over een gemiddelde prevalentie op bedrijfsniveau van meer dan 20%, maar er zijn grote verschillen tussen landen. Zo is dit in Nederland 79%. Een kritische noot dient geplaatst te worden bij de opzet van de vergeleken studies. Zo zijn er verschillende testmethodieken gebruikt, veelal lage aantallen kuddes en/of dieren -al dan niet random- getest. Het lijkt het erop dat er in Nederland veel paratuberculose voorkomt, het merendeel van de melkgeitenbedrijven heeft ermee te maken. Het is onduidelijk wat hiervan de oorzaak is. Belangrijk is echter hoe de sector met deze gegevens omgaat.

De tweede gekozen hoofdlijn van deze literatuurscan is erfelijkheid, leeftijdsresistentie, maternale immuniteit en biest. Selectie op levensproductie in plaats van op jaarproductie van melkgeiten biedt wellicht mogelijkheden om gelijktijdig te selecteren op een versterkte weerstand en weerbaarheid tegen ziekten, waaronder paratuberculose. Het nut van selectie op levensproductie wordt ook bevestigd in bestaande databestanden met betrekking tot levensduur, productie en besmetting met paratuberculose. Hoewel wat betreft leeftijdsresistentie het aannemelijk is dat eenzelfde relatie tussen dosis en leeftijd van blootstelling bestaat als bij runderen, is het wel zo dat vergelijkbare gegevens voor geiten grotendeels ontbreken. We zouden voorzichtig kunnen concluderen dat een goed management (waaronder strikte hygiënemaatregelen) van jonge en opgroeiende geiten van groot belang is als strategische interventie strategie. Er valt veel te bereiken met reductie en vertraging van blootstelling voor het optreden van klinische en subklinische paratuberculose.

De meeste literatuur over biest heeft betrekking op melkkoeien. Zoals biest in zijn algemeenheid de maternale immuniteit overdraagt, gebeurt dit ook met antilichamen tegen Map door een Map geïnfecteerd moederdier. Deze biest is een veel beter bronmateriaal voor een serologische test op Map dan serum, omdat het een veel hogere titer antilichamen heeft en daarmee ook een hogere sensitiviteit. Een hogere titer in biest leidt echter niet automatisch tot een hogere titer in serum, zoals blijkt uit sera van kalveren van BCG-gevaccineerde moederdieren. Hiervan was de cellulaire immunrespons wel veel hoger. Of biest ook immuniteit overdraagt voor Map is nog niet aangetoond. Daarbij is het mogelijk een bron van Map-transmissie. Hoewel de literatuur hier niet eenduidig over is, lijkt de bijdrage van biest aan transmissie niet groot in vergelijking met andere transmissieroutes. Deze kennisleemtes, zeker op het gebied van geiten, dient opgehelderd te worden. Een mogelijke kansrijke interventiestrategie zou gedecontamineerde biest kunnen zijn.

Het is mogelijk om biest op verschillende wijzen te decontamineren van kiemen, zoals hittebehandeling of behandeling met 100% zuurstof onder druk. Dit heeft geen effect op de klinische status of productie van de dieren, maar wel op diverse immunologische parameters. Het gebruik van

Literatuurscan paratuberculose

specifieke bacteriofagen kan hierbij een goede methode zijn om levende (dus geen dode) mycobacteriën te tellen.

De derde gekozen lijn van de literatuurscan betreft de richting van de aanpak paratuberculose. Een plan van aanpak voor vrijwillige beheersing al dan niet bestrijding zou een stap in de goede richting kunnen zijn. Paratuberculose bij melkgeiten verdient een systematische aanpak. Dit betekent inzet op twee sporen: enerzijds het verlagen van het risico op insleep van Map en verspreiding ervan over het bedrijf, anderzijds het bevorderen van de weerstand en weerbaarheid van de dieren.

In de afgelopen zeven decennia is ruime ervaring opgedaan met de bestrijding van paratuberculose in de Nederlandse rundveehouderij. Dit heeft uiteindelijk geleid tot een beheersingsprogramma waaraan vrijwel alle de Nederlandse melkveehouders deelnemen. De stappen die gevolgd zijn om een dergelijk beheersingsprogramma op te zetten zijn eveneens van belang bij de opzet van een collectief beheersingsprogramma voor de Nederlandse geitenhouderij. De opgedane ervaringen tonen aan dat het belangrijk is om bij de opzet van een programma een eenduidige doelstelling te formuleren. De doelstelling van PPN om de concentratie Map in tankmelk te verlagen is goed werkbaar gebleken. Op basis van die doelstelling kon worden bepaald welke testsystematiek nodig is om bedrijven met de gewenste status (status A) zekerheid te kunnen bieden over de hoeveelheid Map in de tankmelk. Het ligt voor de hand de doelstelling van een beheersingsprogramma voor de melkgeitenhouderij aan te laten sluiten bij de in de rundveehouderij gekozen doelstelling. Tot slot bleek het van belang dat deelname niet alleen op sectoraal niveau leidt tot het gewenste doel, maar ook aantrekkelijk is voor de individuele dierhouder.

Onderdeel van een plan van aanpak zou vaccinatie (vierde lijn) kunnen zijn. Productie-, epidemiologische- en pathogenetische effecten van vaccinatie tegen paratuberculose kunnen worden samengevat als positief [98]. Maar, voor zover bekend, is er geen gunstig effect op transmissie gedemonstreerd. Het in Nederland tijdelijk toegestane, en veelvuldig gebruikte vaccin Gudair® beschermt volgens de bijsluiter tegen de ontwikkeling van klinische paratuberculose en bewerkstelligt daarmee een afname van uitscheiding van de kiem in de mest. Daarmee is het vaccin een belangrijk “tool” in de beheersing [119]. De sector zou er goed aan doen zich hard te maken voor een definitieve registratie van dit vaccin in Nederland. Het mogelijke nadeel van vaccinatie is interferentie met de intradermale (runder-)tuberculose huidtest. Wanneer dieren die geen tuberculose hebben op jonge leeftijd met Gudair® worden gevaccineerde, is het resultaat van de huidtest betrouwbaar als ze ouder dan twintig maanden zijn, maar bij infectie is het resultaat gecompromitteerd. Gudair® beïnvloedt niet de gevoeligheid en specificiteit van speciale tuberculose testen (serologie of interferon gamma) [102,103].

Literatuurscan paratuberculose

De vijfde en laatst gekozen lijn is de (on-)mogelijkheden van de inzet van fytotherapeutica. Inzet van antibiotica in de melkgeitenhouderij voor dit doel is ongewenst en bij lacterende dieren lastig te realiseren, vanwege de consequenties voor de afzet van de melk. Kruiden en kruidenextracten (preventief ingezet als voedingssupplement of als voedergewas op de weide) bieden wellicht een mogelijkheid om de weerstand en weerbaarheid van de dieren te verhogen. Bovendien kunnen ze een antibacteriële werking op darmniveau hebben tegen Map. Met de toenemende aandacht voor gezondheidsbevordering, in plaats van ziektebeheersing, verdient de mogelijke effectiviteit van inzet van kruiden en kruidenextracten meer aandacht, ook in de melkgeitenhouderij. Van diverse kruiden(extracten) is bekend dat ze in vitro een reducerende werking hebben op Map en er zijn indicaties dat ze een gezondheidsbevorderende werking hebben. Een wetenschappelijke onderbouwing van de effectiviteit van kruiden en kruidenextracten bij de beheersing van paratuberculose bij geiten ontbreekt. Dit geldt ook voor de mogelijke neveneffecten van inzet van kruiden op korte en langere termijn in relatie met dosering (eventuele toxische effecten).

P.S. Deze literatuurscan is een momentopname. Het document is voorzien van een datum rechtsonder in. In de loop van de tijd kan het document aangepast en/of aangevuld worden.

6 Referenties

1. Eisenberg SW, Koets AP, Nielen M, Heederik D, Mortier R, et al. (2011) Intestinal infection following aerosol challenge of calves with *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis. *Vet Res* 42: 117.
2. Swift BM, Denton EJ, Mahendran SA, Huxley JN, Rees CE (2013) Development of a rapid phage-based method for the detection of viable *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis in blood within 48 h. *J Microbiol Methods* 94: 175-179.
3. Stewart LD, Foddai A, Elliott CT, Grant IR (2013) Development of a novel phage-mediated immunoassay for the rapid detection of viable *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis. *J Appl Microbiol* 115: 808-817.
4. Botsaris G, Liapi M, Kakogiannis C, Dodd CE, Rees CE (2013) Detection of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis in bulk tank milk by combined phage-PCR assay: evidence that plaque number is a good predictor of MAP. *Int J Food Microbiol* 164: 76-80.
5. Foddai A, Strain S, Whitlock RH, Elliott CT, Grant IR (2011) Application of a peptide-mediated magnetic separation-phage assay for detection of viable *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis to bovine bulk tank milk and feces samples. *J Clin Microbiol* 49: 2017-2019.
6. Foddai A, Elliott CT, Grant IR (2010) Rapid assessment of the viability of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis cells after heat treatment, using an optimized phage amplification assay. *Appl Environ Microbiol* 76: 1777-1782.
7. Foddai A, Elliott CT, Grant IR (2010) Maximizing capture efficiency and specificity of magnetic separation for *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis cells. *Appl Environ Microbiol* 76: 7550-7558.
8. Botsaris G, Slana I, Liapi M, Dodd C, Economides C, et al. (2010) Rapid detection methods for viable *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis in milk and cheese. *Int J Food Microbiol* 141 Suppl 1: S87-90.
9. Foddai A, Elliott CT, Grant IR (2009) Optimization of a phage amplification assay to permit accurate enumeration of viable *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis cells. *Appl Environ Microbiol* 75: 3896-3902.
10. Bauerfeind R, Benazzi S, Weiss R, Schliesser T, Willems H, et al. (1996) Molecular characterization of *Mycobacterium paratuberculosis* isolates from sheep, goats, and cattle by hybridization with a DNA probe to insertion element IS900. *J Clin Microbiol* 34: 1617-1621.
11. van Schaik G, Schukken YH, Crainiceanu C, Muskens J, VanLeeuwen JA (2003) Prevalence estimates for paratuberculosis adjusted for test variability using Bayesian analysis. *Prev Vet Med* 60: 281-295.
12. Nielsen SS, Toft N (2009) A review of prevalences of paratuberculosis in farmed animals in Europe. *Prev Vet Med* 88: 1-14.
13. Muskens J, Barkema HW, Russchen E, van Maanen K, Schukken YH, et al. (2000) Prevalence and regional distribution of paratuberculosis in dairy herds in The Netherlands. *Vet Microbiol* 77: 253-261.
14. Minas A, Koutsoukou-Hartona, E., Papasavvas, M., Tsantas, H. (1994) Epidimiologiki erevna sta poimnia provaton kai aigon stis Voreies Sporades gia parafymatiosi kai proiousa pnevmonia Deltion tis Ellinikis Ktiniatrikis Etaireias 45: 25-30.
15. Reviriego FJ, Moreno, M.A., Dominguez, L. (2000) Soil type as a putative risk factor of ovine and caprine paratuberculosis seropositivity in Spain. *Prev Vet Med*: 43-51.
16. Muehlherr JE, Zweifel C, Corti S, Blanco JE, Stephan R (2003) Microbiological quality of raw goat's and ewe's bulk-tank milk in Switzerland. *J Dairy Sci* 86: 3849-3856.
17. Grant IR, O'Riordan LM, Ball HJ, Rowe MT (2001) Incidence of *Mycobacterium paratuberculosis* in raw sheep and goats' milk in England, Wales and Northern Ireland. *Vet Microbiol* 79: 123-131.

18. Mendes S, Boinas, F., Albuquerque, T., Fernandes, L., Afonso, A., Amado, A. (2004) Epidemiological studies on paratuberculosis in small ruminants in Portugal. *Epidemiol Sante Anim* 45: 61-71.
19. Ocepek M, Krt, B., Pate, M., Pogacnik, M. (2002) Seroprevalence of paratuberculosis in Slovenia between 1999 and 2001. *Slov Vet Res* 39: 179-185.
20. Khol JL, Stein, B., Dreier, S., Baumgartner, W. (2006) Paratuberculosis (Johne's disease) in small ruminants in Austria. *Slov Vet Res* 43: 129-130.
21. Mørk T, Heier, B.T., Alvseike, K.R., Lund, A. (2003) Overvåkings- og kontrollprogrammer for landdyr, fisk og skjell i Norge med vekt på BSE-, salmonella- og paratuberkuloseprogrammene *Norsk Veterinaertidsskrift* 115: 707-717.
22. Cvetnic Z (2002) Paratuberkuloza ovaca i koza u Republici Hrvatskoj *Praxis Veterinaria Zagreb* 50: 255-260.
23. Lee KW, Jung BY, Moon OK, Yang DK, Lee SH, et al. (2006) Seroprevalence of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis in Korean black goats (*Capra hircus aegagrus*). *J Vet Med Sci* 68: 1379-1381.
24. Fernandez-Silva JA, Correa-Valencia NM, Ramirez NF (2014) Systematic review of the prevalence of paratuberculosis in cattle, sheep, and goats in Latin America and the Caribbean. *Trop Anim Health Prod*.
25. Dimareli-Malli Z, Stevenson K, Sarris K, Sossidou K (2009) Study of microbiological and molecular typing aspects of paratuberculosis in sheep and goats in Northern Greece. *Transbound Emerg Dis* 56: 285-290.
26. Djonne B, Jensen MR, Grant IR, Holstad G (2003) Detection by immunomagnetic PCR of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis in milk from dairy goats in Norway. *Vet Microbiol* 92: 135-143.
27. Mercier P, Baudry C, Beaudeau F, Seegers H, Malher X (2010) Estimated prevalence of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis infection in herds of dairy goats in France. *Vet Rec* 167: 412-415.
28. Gonda MG, Chang YM, Shook GE, Collins MT, Kirkpatrick BW (2006) Genetic variation of *Mycobacterium avium* ssp. paratuberculosis infection in US Holsteins. *J Dairy Sci* 89: 1804-1812.
29. Hinger M, Brandt H, Erhardt G (2008) Heritability estimates for antibody response to *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis in German Holstein cattle. *J Dairy Sci* 91: 3237-3244.
30. Mortensen H, Nielsen SS, Berg P (2004) Genetic variation and heritability of the antibody response to *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis in Danish Holstein cows. *J Dairy Sci* 87: 2108-2113.
31. Koets AP, Adugna G, Janss LL, van Weering HJ, Kalis CH, et al. (2000) Genetic variation of susceptibility to *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis infection in dairy cattle. *J Dairy Sci* 83: 2702-2708.
32. van Hulzen KJ, Schopen GC, van Arendonk JA, Nielen M, Koets AP, et al. (2012) Genome-wide association study to identify chromosomal regions associated with antibody response to *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis in milk of Dutch Holstein-Friesians. *J Dairy Sci* 95: 2740-2748.
33. Singh PK, Singh SV, Singh MK, Saxena VK, Horin P, et al. (2012) Effect of genetic variation in the MHC Class II DRB region on resistance and susceptibility to Johne's disease in endangered Indian Jamunapari goats. *Int J Immunogenet* 39: 314-320.
34. Singh P.K. SSV, Singh A.V., Sohal J.S. (2009) Variability in susceptibility of different Indian goat breeds with respect to natural and experimental infection of *Mycobacterium avium* subspecies Paratuberculosis. *The Indian Journal of Small Ruminants* 15: 35-43.

35. van Hulzen KJ, Koets AP, Nielen M, Hoeboer J, van Arendonk JA, et al. (2012) Genetic variation for infection status as determined by a specific antibody response against *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis in milk of Dutch dairy goats. *J Dairy Sci* 95: 6145-6151.
36. Larsen AB, Merkal RS, Cutlip RC (1975) Age of cattle as related to resistance to infection with *Mycobacterium paratuberculosis*. *Am J Vet Res* 36: 255-257.
37. Mortier RA, Barkema HW, Bystrom JM, Illanes O, Orsel K, et al. (2013) Evaluation of age-dependent susceptibility in calves infected with two doses of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis using pathology and tissue culture. *Vet Res* 44: 94.
38. Windsor PA, Whittington RJ (2010) Evidence for age susceptibility of cattle to Johne's disease. *Vet J* 184: 37-44.
39. Mitchell RM, Medley GF, Collins MT, Schukken YH (2012) A meta-analysis of the effect of dose and age at exposure on shedding of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis (MAP) in experimentally infected calves and cows. *Epidemiol Infect* 140: 231-246.
40. Mackintosh CG, Clark RG, Thompson B, Tolentino B, Griffin JF, et al. (2010) Age susceptibility of red deer (*Cervus elaphus*) to paratuberculosis. *Vet Microbiol* 143: 255-261.
41. McGregor H, Dhand NK, Dhungyel OP, Whittington RJ (2012) Transmission of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis: dose-response and age-based susceptibility in a sheep model. *Prev Vet Med* 107: 76-84.
42. Godden S (2008) Colostrum management for dairy calves. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 24: 19-39.
43. Guedes MT, Zacharias F, Couto RD, Portela RW, Santos LC, et al. (2010) Maternal transference of passive humoral immunity to *Haemonchus contortus* in goats. *Vet Immunol Immunopathol* 136: 138-143.
44. Uetake K (2013) Newborn calf welfare: a review focusing on mortality rates. *Anim Sci J* 84: 101-105.
45. Orsel K, van Amerongen JJ, Zadoks RN, van Doorn DC, Wensing T (2000) [Serum gamma globulin concentration in goat kids after colostrum administration: effect of time of administration, volume and type of colostrum]. *Tijdschr Diergeneeskd* 125: 709-712.
46. Cervenak J, Kacs Kovics I (2009) The neonatal Fc receptor plays a crucial role in the metabolism of IgG in livestock animals. *Vet Immunol Immunopathol* 128: 171-177.
47. Giragossian C, Clark T, Piche-Nicholas N, Bowman CJ (2013) Neonatal Fc receptor and its role in the absorption, distribution, metabolism and excretion of immunoglobulin G-based biotherapeutics. *Curr Drug Metab* 14: 764-790.
48. Clawson ML, Heaton MP, Chitko-McKown CG, Fox JM, Smith TP, et al. (2004) Beta-2-microglobulin haplotypes in U.S. beef cattle and association with failure of passive transfer in newborn calves. *Mamm Genome* 15: 227-236.
49. Laegreid WW, Heaton MP, Keen JE, Grosse WM, Chitko-McKown CG, et al. (2002) Association of bovine neonatal Fc receptor alpha-chain gene (FCGRT) haplotypes with serum IgG concentration in newborn calves. *Mamm Genome* 13: 704-710.
50. Zervens LM, Nielsen SS, Jungersen G (2013) Characterisation of an ELISA detecting immunoglobulin G to *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis in bovine colostrum. *Vet J* 197: 889-891.
51. Lyche JL, Larsen HJ, Skaare JU, Tverdal A, Johansen GM, et al. (2006) Perinatal exposure to low doses of PCB 153 and PCB 126 affects maternal and neonatal immunity in goat kids. *J Toxicol Environ Health A* 69: 139-158.
52. Sanchez-Macias D, Moreno-Indias I, Castro N, Morales-Delanuez A, Arguello A (2014) From goat colostrum to milk: physical, chemical, and immune evolution from partum to 90 days postpartum. *J Dairy Sci* 97: 10-16.
53. Pithua P, Godden SM, Wells SJ, Stabel JR (2011) Evaluation of the risk of paratuberculosis in adult cows fed *Mycobacterium avium* subsp paratuberculosis DNA-positive or -negative colostrum as calves. *Am J Vet Res* 72: 1456-1464.

54. Robbe-Austerman S (2011) Control of paratuberculosis in small ruminants. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 27: 609-620, vii.
55. Momotani E, Whipple DL, Thiermann AB, Cheville NF (1988) Role of M cells and macrophages in the entrance of *Mycobacterium paratuberculosis* into domes of ileal Peyer's patches in calves. *Vet Pathol* 25: 131-137.
56. Sigur-Dardottir OG, Press CM, Evensen O (2001) Uptake of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* through the distal small intestinal mucosa in goats: an ultrastructural study. *Vet Pathol* 38: 184-189.
57. Chattha KS, Firth MA, Hodgins DC, Shewen PE (2009) Age related variation in expression of CD21 and CD32 on bovine lymphocytes: a cross-sectional study. *Vet Immunol Immunopathol* 130: 70-78.
58. Castro N, Capote J, Morales-Delanuez A, Rodriguez C, Arguello A (2009) Effects of newborn characteristics and length of colostrum feeding period on passive immune transfer in goat kids. *J Dairy Sci* 92: 1616-1619.
59. Mellado M, Pittroff W, Garcia JE, Mellado J (2008) Serum IgG, blood profiles, growth and survival in goat kids supplemented with artificial colostrum on the first day of life. *Trop Anim Health Prod* 40: 141-145.
60. Zervens LM, Nielsen SS, Jungersen G (2013) Characterisation of an ELISA detecting immunoglobulin G to *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in bovine colostrum. *Vet J*.
61. Nielsen SS, Toft N (2012) Effect of days in milk and milk yield on testing positive in milk antibody ELISA to *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in dairy cattle. *Vet Immunol Immunopathol* 149: 6-10.
62. Dore E, Pare J, Cote G, Buczinski S, Labrecque O, et al. (2012) Risk factors associated with transmission of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* to calves within dairy herd: a systematic review. *J Vet Intern Med* 26: 32-45.
63. Pithua P, Godden SM, Wells SJ, Oakes MJ (2009) Efficacy of feeding plasma-derived commercial colostrum replacer for the prevention of transmission of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in Holstein calves. *J Am Vet Med Assoc* 234: 1167-1176.
64. Nielsen SS, Bjerre H, Toft N (2008) Colostrum and milk as risk factors for infection with *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in dairy cattle. *J Dairy Sci* 91: 4610-4615.
65. Stabel JR (2008) Pasteurization of colostrum reduces the incidence of paratuberculosis in neonatal dairy calves. *J Dairy Sci* 91: 3600-3606.
66. Nonnecke BJ, Waters WR, Goff JP, Foote MR (2012) Adaptive immunity in the colostrum-deprived calf: response to early vaccination with *Mycobacterium bovis* strain bacille Calmette Guerin and ovalbumin. *J Dairy Sci* 95: 221-239.
67. Herrera-Rodriguez SE, Gordiano-Hidalgo MA, Lopez-Rincon G, Bojorquez-Narvaez L, Padilla-Ramirez FJ, et al. (2013) *Mycobacterium bovis* DNA detection in colostrum as a potential indicator of vaccination effectiveness against bovine tuberculosis. *Clin Vaccine Immunol* 20: 627-633.
68. Alvarez N, Otero O, Camacho F, Borrero R, Tirado Y, et al. (2013) Passive administration of purified secretory IgA from human colostrum induces protection against *Mycobacterium tuberculosis* in a murine model of progressive pulmonary infection. *BMC Immunol* 14 Suppl 1: S3.
69. Serrano-Moreno BA, Romero TA, Arriaga C, Torres RA, Pereira-Suarez AL, et al. (2008) High frequency of *Mycobacterium bovis* DNA in colostrum from tuberculous cattle detected by nested PCR. *Zoonoses Public Health* 55: 258-266.
70. Pithua P, Wells SJ, Godden SM, Stabel JR (2011) Evaluation of the association between fecal excretion of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* and detection in colostrum and on teat skin surfaces of dairy cows. *J Am Vet Med Assoc* 238: 94-100.

71. Morales-de la Nuez A, Moreno-Indias I, Sanchez-Macias D, Capote J, Juste MC, et al. (2011) Sodium dodecyl sulfate reduces bacterial contamination in goat colostrum without negative effects on immune passive transfer in goat kids. *J Dairy Sci* 94: 410-415.
72. Trujillo AJ, Castro N, Quevedo JM, Arguello A, Capote J, et al. (2007) Effect of heat and high-pressure treatments on microbiological quality and immunoglobulin G stability of caprine colostrum. *J Dairy Sci* 90: 833-839.
73. Fernandez A, Ramos JJ, Loste A, Ferrer LM, Figueras L, et al. (2006) Influence of colostrum treated by heat on immunity function in goat kids. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 29: 353-364.
74. Donaghy J, Keyser M, Johnston J, Cilliers FP, Gouws PA, et al. (2009) Inactivation of *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* in milk by UV treatment. *Lett Appl Microbiol* 49: 217-221.
75. Altic LC, Rowe MT, Grant IR (2007) UV light inactivation of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in milk as assessed by FASTPlaqueTB phage assay and culture. *Appl Environ Microbiol* 73: 3728-3733.
76. Ramos JJ, Loste A, Ferrer LM, Fernandez A, Castro N, et al. (2010) Effect of addition of soybean trypsin inhibitor to colostrum on immunological status in goat kids. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 94: 93-98.
77. Paterna A, Sanchez A, Amores J, Gomez-Martin A, Corrales JC, et al. (2013) Survival of *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* subspecies *capri* in heat treated goat colostrum. *Vet J* 196: 263-265.
78. Moretti DB, Nordi WM, Lima AL, Pauletti P, Machado-Neto R (2013) Enteric, hepatic and muscle tissue development of goat kids fed with lyophilized bovine colostrum. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*.
79. Benedictus G, Verhoeff J, Schukken YH, Hesselink JW (2000) Dutch paratuberculosis programme history, principles and development. *Vet Microbiol* 77: 399-413.
80. Benedictus G (1984) [Evaluation of the organized control of paratuberculosis in the province of Friesland]. *Tijdschr Diergeneeskd* 109: 905-916.
81. van Schaik G, Kalis CH, Benedictus G, Dijkhuizen AA, Huirne RB (1996) Cost-benefit analysis of vaccination against paratuberculosis in dairy cattle. *Vet Rec* 139: 624-627.
82. Kalis CH, Hesselink JW, Barkema HW, Collins MT (2001) Use of long-term vaccination with a killed vaccine to prevent fecal shedding of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in dairy herds. *Am J Vet Res* 62: 270-274.
83. van Roermund HJW, Vos, A.M., de Jong, M.C.M. Within-herd transmission of paratuberculosis and the possible role of infectious calves. In: Juste RA, Geijo, M. V., and Garrido, J. M., editor; 2002 11-14 June; Bilbao, Spain. pp. 368-370.
84. van Roermund HJW, Weber, M.F., Graat, E.A., de Jong, M.C.M. Monitoring programmes for paratuberculosis-unsuspected cattle herds, based on quantification of between-herd transmission. In: Juste RA, Geijo, M. V., and Garrido, J. M., editor; 2002 11-14 June; Bilbao, Spain. pp. 371-376.
85. Weber MF, Groenendaal H, van Roermund HJ, Nielen M (2004) Simulation of alternatives for the Dutch Johne's disease certification-and-monitoring program. *Prev Vet Med* 62: 1-17.
86. Weber MF (2009) Surveillance of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in dairy herds. Deventer: Utrecht University.
87. Weber MF, van Schaik, G. Results of the Dutch bulk milk quality assurance programme for paratuberculosis. In: Nielseen SS, editor; 2007 October 28 - November 2; Tsukuba, Japan. pp. 324-327.
88. Weber MF, Nielen M, Velthuis AG, van Roermund HJ (2008) Milk quality assurance for paratuberculosis: simulation of within-herd infection dynamics and economics. *Vet Res* 39: 12.

89. Huijben R, Booij, A., Witteveen, G. (2013) Monitorings jaarverslag 2012. Deventer: Gezondheidsdienst voor Dieren. 1-115 p.
90. van Roermund HJW, Koeijer, A.A., Velthuis, A.G.J., Weber, M.F., Saatkamp, H.W., de Jong, M.C.M. (2004) Quality assurance program for paratuberculosis. Lelystad: Animal Sciences Group, Wageningen UR. pp. 1-91.
91. van Roermund HJW, Weber, M.F., de Koeijer, A.A., Velthuis, A.G.J., de Jong, M.C.M. . Development of a milk quality assurance program for paratuberculosis: from within- and between herd dynamics to economic decision analysis. In: Manning EJBaN, S. S., editor; 2005 14 - 18 August; Copenhagen, Denmark. pp. 51-59.
92. Weber MF (2008) Milk quality assurance for paratuberculosis in the national Dutch dairy herd. The Paratuberculosis Newsletter. September 2008 ed.
93. Franken P. Paratuberculosis control in the Netherlands: the target and overview of activities. In: Manning EJAN, S. S., editor; 2005 14 - 18 August; Copenhagen, Denmark. pp. 15-19.
94. Anon (2014) Hoofdpunten monitoring rundergezondheidszorg, vierde kwartaal 2013. . In: Dieren Gv, editor.
95. Velthuis AGJ, Weber, M.F., de Koeijer, A.A., van Roermund, H.J.W. Milk-quality-assurance program for Johne's disease: decision analysis from a farmers' perspective.; 2006 6-11 August Cairns, Australia. pp. 313.
96. Australia AH (2014) History of OJD in Australia. Ovine Johne's disease in Australia.
97. Australia AH (2013) SheepMAP Manual, Rules and Guidelines for Australian Johne's Disease Market Assurance Plan for Sheep.
98. Bastida F, Juste RA (2011) Paratuberculosis control: a review with a focus on vaccination. J Immune Based Ther Vaccines 9: 8.
99. Saxegaard F, Fodstad FH (1985) Control of paratuberculosis (Johne's disease) in goats by vaccination. Vet Rec 116: 439-441.
100. Fridriksdottir V, Gunnarsson E, Sigurdarson S, Gudmundsdottir KB (2000) Paratuberculosis in Iceland: epidemiology and control measures, past and present. Vet Microbiol 77: 263-267.
101. Reddacliff L (2005) Field evaluation of OJD control using Gudair. NSW Department of Primary Industries & Meat & Livestock Australia Limited.
102. Coad M, Clifford DJ, Vordermeier HM, Whelan AO (2013) The consequences of vaccination with the Johne's disease vaccine, Gudair, on diagnosis of bovine tuberculosis. Vet Rec 172: 266.
103. Mackintosh CG, Labes RE, Thompson BR, Clark RG, de Lisle GW, et al. (2008) Efficacy, immune responses and side-effects of vaccines against Johne's disease in young red deer (*Cervus elaphus*) experimentally challenged with *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis. N Z Vet J 56: 1-9.
104. Chartier C, Mercier, P., Pellet, M. P., Vialard, J. (2012) Effect of an inactivated paratuberculosis vaccine on the intradermal testing of goats for tuberculosis. The Veterinary Journal 191: 360-363.
105. Pfizer (2003) Gudair: instructions in case of accidental administration to humans [fact sheet].
106. Bergboer JG, Oostveen AM, de Jager ME, den Heijer M, Joosten I, et al. (2012) Paediatric-onset psoriasis is associated with ERAP1 and IL23R loci, LCE3C_LCE3B deletion and HLA-C*06. Br J Dermatol 167: 922-925.
107. Faisal SM, Chen JW, Yan F, Chen TT, Useh NM, et al. (2013) Evaluation of a *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis leuD mutant as a vaccine candidate against challenge in a caprine model. Clin Vaccine Immunol 20: 572-581.
108. Hines ME, 2nd, Turnquist SE, Ilha MR, Rajeev S, Jones AL, et al. (2014) Evaluation of novel oral vaccine candidates and validation of a caprine model of Johne's disease. Front Cell Infect Microbiol 4: 26.
109. Faisal SM, Yan F, Chen TT, Useh NM, Guo S, et al. (2013) Evaluation of a Salmonella Vectored Vaccine Expressing *Mycobacterium avium* Subsp. paratuberculosis Antigens Against Challenge in a Goat Model. PLoS One 8: e70171.

110. Kathaperumal K, Kumanan V, McDonough S, Chen LH, Park SU, et al. (2009) Evaluation of immune responses and protective efficacy in a goat model following immunization with a cocktail of recombinant antigens and a polyprotein of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis. *Vaccine* 27: 123-135.
111. Koets A, Hoek A, Langelaar M, Overdijk M, Santema W, et al. (2006) Mycobacterial 70 kD heat-shock protein is an effective subunit vaccine against bovine paratuberculosis. *Vaccine* 24: 2550-2559.
112. Santema W, Rutten V, Segers R, Poot J, Hensen S, et al. (2013) Postexposure subunit vaccination against chronic enteric mycobacterial infection in a natural host. *Infect Immun* 81: 1990-1995.
113. Santema W, Hensen S, Rutten V, Koets A (2009) Heat shock protein 70 subunit vaccination against bovine paratuberculosis does not interfere with current immunodiagnostic assays for bovine tuberculosis. *Vaccine* 27: 2312-2319.
114. Santema W, van Kooten P, Hoek A, Leeflang M, Overdijk M, et al. (2011) Hsp70 vaccination-induced antibodies recognize B cell epitopes in the cell wall of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis. *Vaccine* 29: 1364-1373.
115. Fytotherapie NVv. <http://www.fyto.nl/definities.htm#fytotherapeutica%20Definitie>.
116. Groot MJ, Noordam, M.Y., Kleter, G.A., Asseldonk, A.G.M., Kleijer-Ligtenberg, E., Halkes, S.B.A., Fink-Gremmels, J., Osch, H.H. van (2009) Fyto-V eindrapport, Ontwikkelen van fytotherapie als middel bij het reduceren van en/of behandelen van dierziekten. <http://www.wageningenur.nl/nl/Publicatie-details.htm?publicationId=publication-way-333737353634>; RIKILT - Wageningen-ur. 1-1009 p.
117. Bone K (2004) Phytotherapy for autoimmune disease. . *Townsend Letter for Doctors & Patients* 250.
118. Wong SY, Grant IR, Friedman M, Elliott CT, Situ C (2008) Antibacterial activities of naturally occurring compounds against *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis. *Appl Environ Microbiol* 74: 5986-5990.
119. Windsor PA, Eppleston J, Dhand NK, Whittington RJ (2014) Effectiveness of Gudair vaccine for the control of ovine Johne's disease in flocks vaccinating for at least 5 years. *Aust Vet J* 92: 263-268.