



Telefoon 0474 76 17 58

E-mail [Stefanie.Beghein@odisee.be](mailto:Stefanie.Beghein@odisee.be)

Verantwoordelijke voor de  
praktische uitvoering van het  
project:

Telefoon 0476 94 88 21

E-mail [Jo.Vicca@odisee.be](mailto:Jo.Vicca@odisee.be)

## Projectbeschrijving

### 3 Doelstelling van het project

Gezonde opfok van jonge herkauwers vergt een multiverse aanpak (selectie, omgeving, gebruik van eigen biest,...). In dit project focussen we op de sector van de biologische geitenhouderij en zoomen we in op de drie belangrijkste ziekten – Capriene Arthritis en Encefalitis (CAE), paratuberculose (paraTBC) en caseuze lymfadenitis (CL) - die het gebruik van bedrijfseigen geitenbiest in de weg staan. Dit project kwam tot stand vanuit een concrete vraagstelling vanuit de Vlaamse bio geitenhouderij en zal ook in nauwe samenwerking met hen verder uitgewerkt worden zodat oplossingen ook effectief in de praktijk toepasbaar en inzetbaar zijn. Bovendien wordt nauw samengewerkt met geitenhouders, adviseurs en onderzoekers vanuit Vlaanderen en Nederland om zo alle bestaande en nieuwe kennis optimaal te benutten.

Het verslag van dit onderzoeksproject werd opgemaakt met behulp van Tabel 1 uit de projectaanvraag - waarin een opsomming gemaakt werd van de prestatie-indicatoren gekoppeld aan de verwachte resultaten en de algemene doelstellingen voor deze projectaanvraag.

Tabel 1. Prestatie-indicatoren gekoppeld aan de verwachte resultaten en de algemene doelstellingen voor deze projectaanvraag.

Subdoelstellingen	Verwachte resultaten	Prestatie-indicatoren
<b>AD1:</b> inzicht in verspreiding van CAE, paraTBC en CL	- Percentage van bemonsterde melkgeiten die antistoffen opbouwden tegen CAEV, MAP en <i>C. pseudotuberculosis</i> , per bedrijf	- 12 deelnemende biologische geitenbedrijven - 620 geanalyseerde stalen verdeeld over de bedrijven o Melkstalen: ELISA voor MAP antistoffen door DGZ o Bloedstalen: ELISA voor CAEV antistoffen door CODA en ELISA voor <i>C. pseudotuberculosis</i> antistoffen door GD - Nederland - Berekende prevalentie voor CAE, paraTBC en CL voor de Vlaamse biologische melkgeitensector op basis van staalanalyses - Berekende binnen-bedrijfsprevalentie voor CAE, paraTBC en CL per bedrijf op basis van staalanalyses
	- Overzicht van mogelijke risicofactoren per bedrijf	- Ingevulde vragenlijst per bedrijf en op basis hiervan een olijsting van de aanwezige risicofactoren per bedrijf
	Plan van aanpak per bedrijf	- Algemeen management advies voor melkgeitenbedrijven op basis van binnen-bedrijfsprevalentie en risicofactoren - Gericht management advies per bedrijf op basis van binnen-bedrijfsprevalentie en risicofactoren
	Diagnostische waarde van ELISA en PCR op melk voor detectie van CAE	- Bijkomende analyse van 310 melkstalen met ELISA voor CAE – door CODA - Bijkomende analyse van 20 bloedstalen en 20 melkstalen per bedrijf met PCR voor CAE – door CODA
<b>AD2:</b> inzetbaarheid van kiemvrije bedrijfseigen biest	Methodieken voor toepassing op bedrijf: - Verhitten van biest waarbij de verhittingstijd en – temperatuur noodzakelijk om biest vrij te maken van	- Lijst van geschikte recipiënten voor het portiegewijs invriezen en ontdooien van biest

<p>CAEV, MAP en <i>C. pseudotuberculosis</i>, uitgaande van diepgevroren biest zal gekend zijn</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Bieststalen van verschillende geiten met hoge antistoffen titers tegen MAP, CAEV en <i>C. pseudotuberculosis</i> verzameld en ingevroren</li> <li>- Analyse van 100 verhitte bieststalen op aanwezigheid van MAP, CAEV en <i>C. pseudotuberculosis</i></li> <li>- Op het bedrijf toepasbaar protocol, met specificaties over temperatuur en tijdsduur, voor het ontdooien en verhitten van biest in een vooraf bepaald recipiënt en volume</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Individuele en groepsterugkoppeling BBN geiten</li> <li>- Populariserende artikelen</li> <li>- Wetenschappelijke artikelen</li> <li>- Studie-avond voor brede publiek</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Voorstelling van de resultaten tijdens minstens 1 BBN geiten</li> <li>- Voorstelling van de algemene resultaten aan deelnemers van de Vlaamse Studieclub van Professionele Geitenhouders en/of de Werkgroep Geiten van Boerenbond</li> <li>- Minstens 2 inzendingen voor elektronische nieuwsbrief van CCBT, bioforum of NOBL</li> <li>- Minstens 2 populariserende en 2 wetenschappelijke artikelen</li> <li>- 1 studie-avond voor het brede publiek</li> </ul>

<b>AD1:</b> inzicht in verspreiding van CAE, paraTBC en CL	-	Percentage van bemonsterde melkgeiten die antistoffen opbouwden tegen CAEV, MAP en <i>C. pseudotuberculosis</i> , per bedrijf	-	12 deelnemende biologische geitenbedrijven
			-	620 geanalyseerde stalen verdeeld over de bedrijven <ul style="list-style-type: none"> <li>o Melkstalen: ELISA voor MAP antistoffen door DGZ</li> <li>o Bloedstalen: ELISA voor CAEV antistoffen door CODA en ELISA voor <i>C. pseudotuberculosis</i> antistoffen door GD - Nederland</li> </ul>
			-	Berekende prevalentie voor CAE, paraTBC en CL voor de Vlaamse biologische melkgeitensector op basis van staalanalyses
			-	Berekende binnen-bedrijfsprevalentie voor CAE, paraTBC en CL per bedrijf op basis van staalanalyses

Om inzicht te krijgen in de verspreiding van CAE, paraTBC en CL binnen de Vlaamse biologische melkgeitensector, werden in het voorjaar 2018, 11 professionele bedrijven bezocht. Er waren bij aanvang van de studie 12 Vlaamse biologische melkgeitenbedrijven operationeel, 1 bedrijf was niet bereid om deel te nemen aan het onderzoek.

Het aantal te bemonsteren dieren per bedrijf werd berekend op basis van het aantal aanwezige melkgevende dieren op het moment van bedrijfsbezoek. Er werden 14,5-15% van de melkgevende dieren bemonsterd, met een minimum van 10 dieren per bedrijf. De selectie van de dieren gebeurde ad random – van zodra een geit in productie was, kon ze ingesloten worden in dit onderzoek.

In Tabel 2 is een overzicht van de bedrijfsgrootte en het aantal bemonsterde dieren te vinden. Naast een bloedstaal werd ook een melkstaal verzameld. Alle bloedstalen werden ingestuurd voor titerbepaling voor CAE (Sciensano) en paraTBC (DGZ) antistoffen. De melkstalen werden gebruikt om parallelle diagnostiek voor CAE uit te voeren. Per bedrijf werden 20 serumstalen ingestuurd naar de Gezondheidsdienst voor dieren in Nederland (GD), voor CL diagnostiek. Het aantal ingestuurde stalen voor CL-diagnostiek wijkt af van 20 indien er minder stalen aanwezig waren of wanneer een bedrijf een voorgeschiedenis van CL had.

Tabel 2: Overzicht bedrijfsgrootte en aantal bemonsterde dieren per biologisch melkgeiten bedrijf.

Bedrijfsnummer in dit onderzoek	Aantal melkgeiten per bedrijf	Aantal bemonsterde dieren per bedrijf	Aantal stalen voor CL-diagnostiek
<b>Bedrijf 1</b>	420	63	20
<b>Bedrijf 2</b>	310	46	20
<b>Bedrijf 3</b>	45	10	10
<b>Bedrijf 4</b>	250	37	20
<b>Bedrijf 5</b>	850	126	20
<b>Bedrijf 6</b>	400	66	20
<b>Bedrijf 8</b>	360	53	50
<b>Bedrijf 9</b>	200	32	20
<b>Bedrijf 10</b>	280	42	20
<b>Bedrijf 11</b>	300	43	20
<b>Bedrijf 12</b>	600	91	20
<b>Totaal</b>	<b>4015</b>	<b>609</b>	<b>240</b>

Enkel bij dieren in bedrijf 3 werden antistoffen tegenover **CL** teruggevonden. Op dit bedrijf was de prevalentie voor deze ziekte zeer hoog: 80%. Omdat de bedrijfsleider van dit bedrijf niet plande om deze ziekte op het bedrijf

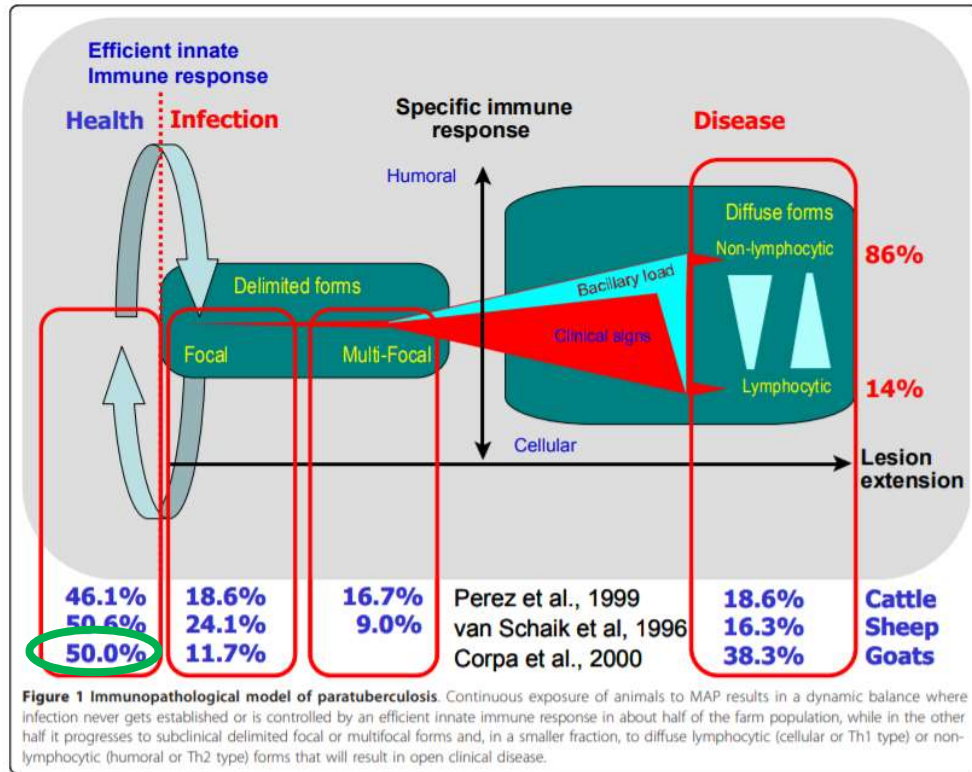
te eradiceren en omdat de aanwezigheid van deze ziekte niet kon aangetoond worden op de andere biologische melkgeitenbedrijven, werd besloten om binnen dit onderzoeksproject niet verder te focussen op deze ziekte.

In Tabel 3 worden de bedrijfsprevalenties (% positieve dieren) voor paraTBC en CAE getoond, samen met de gemiddelde en mediane kwantitatieve ELISA-resultaten.

**ParaTBC:** Op 10 van de 11 bedrijven konden antistoffen tegenover *Mycobacterium paratuberculosis* (MAP) = veroorzaker van paraTBC aangetoond worden. Dit maakt duidelijk dat de prevalentie van MAP op biologische melkgeitenbedrijven zeer hoog is (91%). De binnen-bedrijfsprevalenties voor paraTBC waren ook onverwacht hoog. Op basis van andere studies uit onze buurlanden en preliminair onderzoek in Vlaanderen – samengevat in Tuerlinx et al. 2018, in [Bijlage 1](#) van dit verslag – werd een binnen-bedrijfsprevalentie van 10-40% verwacht. In dit onderzoek varieert deze prevalentie tussen 0 en 70,7%, met een gemiddelde van 50,8%.

Mogelijke verklaringen voor deze hoge binnen-bedrijfsprevalenties en de verschillen tussen de bedrijven:

- Enkel bedrijf 3 en bedrijf 9 vaccineren niet met Gudair® - het vaccin tegen MAP dat éénmalig toegediend wordt op een leeftijd tussen 14 dagen en 3 maanden. Dit kan de beperkte of afwezige immuunrespons verklaren op deze bedrijven. MAP circuleert op bedrijf 3 want er werden positieve dieren gevonden. Op bedrijf 9 hebben we dit in dit prevalentieonderzoek niet kunnen aantonen. Bedrijf 9 was op het moment van het bedrijfsbezoek vrij recent heropgestart na een aantal jaren leegstand.
- De 9 andere bedrijven vaccineren de lammeren met Gudair®. De antistoffen die opgewekt worden door dit vaccin blijken in een MAP-vrije omgeving snel uit de bloedbaan te verdwijnen. Koets et al. (2019) besluiten uit hun onderzoek dat antistoffen die teruggevonden worden bij dieren die 1 jaar oud zijn, niet (alleen) meer kunnen afkomstig zijn van de vaccinatie alleen. De hoge prevalenties die we terugvinden op deze 9 bedrijven duiden daarom op circulatie van en contact met MAP, met een antistoffenrespons tot gevolg. Het is niet duidelijk of deze antistoffen boost zorgt voor een extra bescherming van de dieren of dat ze MAP nog kunnen uitscheiden. Hiervoor is extra onderzoek nodig.
- De gemiddelde binnenbedrijfsprevalentie voor paraTBC is 50,8%. Dit cijfer correspondeert zeer goed met het cijfer in Figuur 1 (in het groene ovaal), waaruit we kunnen aflezen dat, op basis van cijfers die gevonden werden in verschillende wetenschappelijke studies, blijkt dat 50% van de geiten nooit tekenen vertonen die wijzen op een infectie met MAP - dus ook geen antistoffen aanmaken. Nochtans verbleven de dieren in die studies in een MAP-gecontamineerde omgeving – evenals de negatieve dieren in onze prevalentiestudie. Bij deze negatieve dieren moet daarom op de één of andere manier infectie voorkomen worden ofwel moeten ze erin slagen om eventuele initiële infectiehaardjes zeer snel op te ruimen (Bastida and Juste, 2011).



Figuur 1 – Immunopathologisch model voor paraTBC. Bron: Bastida and Juste, 2011

Tabel 3: Bedrijfsprevalentie op biologische melkgeitenbedrijven van de ziekten paraTBC en CAE

Bedrijf	paraTBC			CAE		
	% positieve dieren	Gemiddelde antistoffentiter <sup>1</sup>	Mediaan antistoffentiter	% positieve dieren	Gemiddelde OD-waarde <sup>2</sup>	Mediane OD-waarde
1	49.2	101.629	55.800	81.0	1.097	0.964
2	48.9	81.590	56.468	10.9	0.221	0.047
3	10.0	26.758	0.000	100.0	1.905	2.262
4	51.4	111.137	91.731	0.0	0.051	0.046
5	65.3	134.541	118.308	0.0	0.044	0.041
6	64.1	142.147	133.091	66.2	1.196	0.917
8	69.8	142.041	149.892	15.1	0.291	0.060
9	0	1.155	0.000	15.6	0.344	0.047
10	70.7	164.499	205.840	0.0	0.053	0.047
11	69.0	139.502	124.850	0.0	0.047	0.045
12	60.9	118.545	87.880	90.1	1.131	0.981

<sup>1</sup>: Interpretatie antistoffentiter:

- < 60 = negatief
- ≥ 60 – 70 = niet interpreteerbaar
- ≥ 70 = positief

<sup>2</sup>: Interpretatie OD-waarde:

- < 0,2 = negatief
- ≥ 0,2 = positief

**CAE:** op 7 van de 11 bedrijven werden CAE-antistoffen teruggevonden – de prevalentie van CAE voor de Vlaamse biologische geitenbedrijven is daarom 63,6%. De binnen-bedrijfsprevalentie op deze bedrijven varieert sterk, van 0% dieren met antistoffen tot 100%. In een recent uitgevoerde prevalentiestudie in België (Michiels et al., 2018) –

waarbij 26 hobby- en professionele geitenbedrijven bezocht werden, bleek de tussen-bedrijfsprevalentie 13% en de binnen-bedrijfsprevalentie gemiddeld 6%. De prevalenties berekend in onze studie liggen daarom hoog. Cijfers uit studies in andere Europese landen liggen dan weer meer in de lijn met onze cijfers, bv. 53% tussen-bedrijfsprevalentie in Spanje en 72% in Polen (Schaller et al., 2000; Perez et al., 2010; Kaba et al., 2013).

Hoge CAE-prevalenties werden teruggevonden op zowel grote (bedrijf 1 en bedrijf 12) als hele kleine bedrijven (bedrijf 3). De reden voor deze sterk uiteenlopende bedrijfsprevalenties zijn niet duidelijk. Het biestmanagement verschilt: zowel op bedrijf 3 als bedrijf 1 wordt er moedereigen biest gegeven en is er langer contact tussen moederdier en lam na de geboorte. Op bedrijf 12 is er een strikt gescheiden opfok en wordt er met kunstbiest gewerkt. Op de 3 bedrijven wordt daarna kunstmelk gegeven. Een mogelijke verklaring voor de hoge prevalentie op bedrijf 12, is het injecteren van meerdere dieren met eenzelfde naald.

Op 4 bedrijven werden geen CAE-antistoffen teruggevonden. 3 van deze bedrijven (bedrijf 4, 10 en 11) hebben een CAE-vrij certificaat en volgen het programma van GD (<https://www.gddiergezondheid.nl/cae-certificering>). Het vierde bedrijf (bedrijf 5) past zelf het management aan om CAE-vrij te geraken door o.a. de lammeringen zeer strikt op te volgen. Dit bedrijf is niet CAE-vrij gecertificeerd.

Wanneer de dieren in leeftijdscategorieën werden onderverdeeld – over de bedrijven heen – zoals voorgesteld in Tabel 4, blijkt er geen significant leeftijdseffect te zijn in de gemiddelde seroprevalentie van zowel paraTBC als CAE. Het aantal seropositieve dieren is vrij evenredig verdeeld over de verschillende leeftijdscategorieën. Dit wijst er enerzijds op dat infectie/contact met beide pathogenen al op jonge leeftijd gebeurt. Anderzijds blijken geïnfecteerde dieren ook leeftijden tot +72 maanden te kunnen halen. Aangezien het over een dwarsdoorsnede onderzoek gaat en de dieren niet longitudinaal werden opgevolgd, is het mogelijk dat de infectiedruk waaraan de dieren werden blootgesteld en/of de vaccinatiestatus van de verschillende leeftijdsgroepen verschilt.

Tabel 4: Prevalentie per leeftijdscategorie

Leeftijdscategorie	Aantal dieren	% pos paraTBC	Gemiddelde titer paraTBC	Mediaan titer paraTBC	% pos CAE	Gemiddelde OD-waarde CAE	Mediaan OD-waarde CAE
<b>Tot 12 maanden</b>	8	50	102.510	87.279	37.5	0.578	0.100
<b>13-24 maanden</b>	134	45.5	99.579	43.041	26.9	0.463	0.047
<b>25-36 maanden</b>	136	60.4	125.697	112.748	48.5	0.603	0.147
<b>37-48 maanden</b>	106	70.2	138.755	132.841	37.7	0.624	0.051
<b>49-60 maanden</b>	59	47.5	99.915	42.784	39.0	0.596	0.059
<b>61-72 maanden</b>	56	52.7	109.185	73.800	32.1	0.562	0.057
<b>+72 maanden</b>	83	64.4	128.601	107.744	16.4	0.325	0.046
	<b>582*</b>	55.8	114.892	85.748	34.0	0.536	0.072

\*in totaal werden 609 dieren bemonsterd – maar van 582 werd de geboortedatum teruggevonden

De verdeling tussen mannelijke en vrouwelijke dieren is onevenwichtig. Dit is normaal aangezien elk bedrijf maar een aantal bokken aanhoudt als dekbok. Het is daarom moeilijk om de seroprevalenties tussen beide geslachten te vergelijken. Wat wel duidelijk in beeld komt (Tabel 5), is dat 24% van de dekbokken drager is van CAEV. In een onderzoek naar het belang van CAE-seropositieve bokken in de spreiding van CAE op het geitenbedrijf blijken deze positieve bokken wel degelijk een risicofactor (Nowicka et al., 2015) - CAEV kan immers worden overgedragen via het sperma en bokken maken fysiek contact met alle vrouwelijke dieren. Aankopen van seronegatieve dekbokken is daarom sterk aan te bevelen.

Tabel 5: prevalenties van paraTBC en CAE per geslacht

Geslacht	Aantal dieren	% pos paraTBC	Gemiddelde titer paraTBC	Mediaan titer paraTBC	% pos CAE	Gemiddelde OD-waarde CAE	Mediaan OD-waarde CAE
<b>M</b>	25	41.7	91.348	39.150	24.0	0.308	0.051
<b>V</b>	584	58.0	119.586	97.241	33.9	0.530	0.051



AD1: inzicht in verspreiding van CAE, paraTBC en CL	-	Overzicht van mogelijke risicofactoren per bedrijf	-	Ingevulde vragenlijst per bedrijf en op basis hiervan een oplistings van de aanwezige risicofactoren per bedrijf
---	---	--	---	--

Op basis van literatuuronderzoek werd een vragenlijst opgesteld waarmee tijdens het bedrijfsbezoek gepolst kon worden naar mogelijke risicofactoren voor introductie/spreiding van MAP, CAEV en *Corynebacterium pseudotuberculosis* op de bedrijven. Deze vragenlijst is te vinden in [Bijlage 2](#) bij dit verslag 'Enquête risicofactoren CAE-paraTBC-Cl melkgeiten'. Het afnemen van deze vragenlijst op de bedrijven gaf aanleiding tot gesprek over de aanwezige risicofactoren op het bedrijf. Op deze manier werd met de bedrijfsleider op elk bedrijf overlopen wat mogelijk belangrijke risicofactoren waren – en op dat moment afgestemd op de bedrijfssituatie. Op dat moment hadden we geen zicht op de binnen-bedrijfsprevalentie van de onderzochte ziekten.

Vervolgens werden de variabelen van de enquête in verband gebracht met de serologische uitslagen. Er werd gezocht naar correlaties door middel van een lineair mixed model waarbij de antistoftiter voor paraTBC/CAE als responsvariabele werd opgenomen en de andere bestudeerde variabele (bv. BCS, ervaring, bedrijfsgrootte, enz) als verklarende variabele. De variabele "bedrijf" werd opgenomen als random effect. Hierdoor werden de analyses gecorrigeerd voor het gegeven dat geiten van hetzelfde bedrijf gecorreleerd zijn.

De volgende zaken worden telkens gerapporteerd:

- Parameterschatting (de invloed van de verklarende variabelen op antistoffentiter voor paraTBC/CAE)
- Standaarddeviatie (sd, de standaarddeviatie op de parameterschatting (de onzekerheid op de schatting))
- P-waarde (indien kleiner dan 0.05 dan is er een significant verband tussen titer paraTBC/CAE en verklarende variabele)

Bij de p-waarden/conclusies moeten twee zaken in het oog gehouden worden, nl.:

- Klein aantal bedrijven onderzocht
- De residuen waren niet normaal verdeeld waardoor de p-waarden niet helemaal betrouwbaar zijn. Er werd daarom niet alleen gekeken naar p-waarden maar ook naar de grootte van de parameterschattingen en bijhorende standaarddeviatie. Dit leverde nog enkele interessante tendensen op die weliswaar volgens de p-waarde niet significant zijn.

**Alle significante verbanden en mogelijk interessante tendensen werden in het rood gezet.**

Er was geen significante correlatie tussen **body conditie score (BCS)** en de antistoffentiter voor paraTBC of de antistoffentiter voor CAE. Vermageren is het meest opvallende symptoom van een klinische paraTBC-infectie. Geitenhouders zijn zich heel bewust van dit paraTBC symptoom en zullen dieren die omwille van een niet onmiddellijk verklaarbare reden vermageren, sneller opruimen. Dit kan een verklaring zijn voor het afwezig zijn van een correlatie tussen de antistoffentiter tov deze bacterie en de BCS van de bemonsterde dieren. Bij klinische CAE is vermageren een minder belangrijk symptoom – dit zal enkel optreden in een ver gevorderd stadium van deze ziekte. Daarom is de afwezigheid van een correlatie tussen BCS en CAE-prevalentie eerder te verwachten.

	parameterschatting	p-waarde
<b>As-titer paraTBC</b>	-5.209 (sd:13.645)	0.703
<b>OD-waarde CAE</b>	-0.068 (sd: 0.081)	0.402

Tijdens het gesprek werd gevraagd in welk jaar het bedrijf werd opgestart – als maat voor de **ervaring** van een melkgeitenhouder. Ervaring kon in dit onderzoek niet als een significante variabele aangeduid worden – er is geen significante correlatie tussen ervaring en de antistoffentiter voor paraTBC en CAE.

	Parameterschatting	p-waarde
<b>As-titer paraTBC</b>	-0.439 (sd: 1.769)	0.811

<b>OD-waarde CAE</b>	-0.026 (sd: 0.021)	0.2545
----------------------	--------------------	--------

**Bedrijfs grootte** (aantal gehouden melkgeiten) bleek ook niet significant te correleren met de antistoffentiter voor paraTBC en CAE.

	<b>Parameterschatting</b>	<b>p-waarde</b>
<b>As-titer paraTBC</b>	-0.018 (sd:0.088)	0.847
<b>OD-waarde CAE</b>	-0.0004 (sd:0.021)	0.2545

**Huisvesting** speelt bij zowel paraTBC als CAE een belangrijke rol in ziekteoverdracht. Daarom werden in de vragenlijst verschillende vragen opgenomen om het huisvestingsmanagement in beeld te brengen.

Er konden geen significante verschillen gevonden worden tussen antistoffentiters tegenover paraTBC én CAE tussen bedrijven die hun lammeren **huisvesten in hetzelfde gebouw** als de melkgeiten of ze net apart houden in een lammerstal. Dit is in tegenstelling tot wat algemeen aangenomen wordt voor deze dierziekten – strikt gescheiden huisvesten zou moeten leiden tot een prevalentiedaling. Gezien het beperkt aantal bedrijven in ons onderzoek, moeten we deze resultaten heel voorzichtig interpreteren.

	<b>Parameterschatting</b>	<b>p-waarde</b>
<b>As-titer paraTBC</b>	-18.330 (sd: 14.704)	0.2474
<b>OD-waarde CAE</b>	-0.057 (sd: 0.206)	0.7885

Er werd ook gevraagd of er **fysiek contact** mogelijk was tussen de volwassen geiten en de lammeren. Dit was op slechts 1 bedrijf mogelijk waardoor statistische analyse voor deze variabele niet kon uitgevoerd worden. **Neus-neus contact en delen van ingeademde lucht** tussen verschillende leeftijdscategorieën bleken in deze studie geen significante correlatie te vertonen met de antistoffentiters voor CAE en paraTBC.

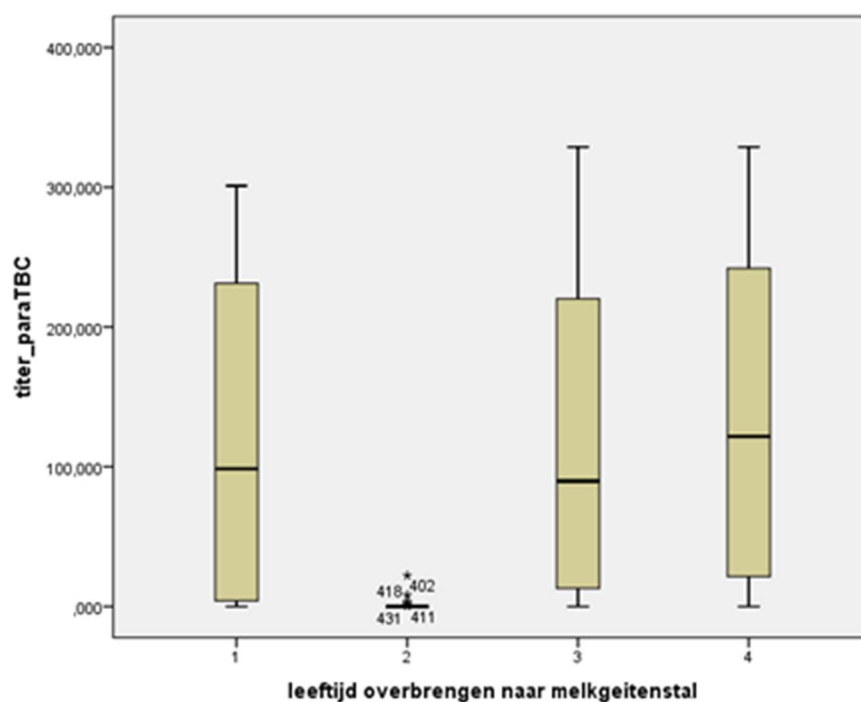
De **leeftijd van overbrengen van de opfoklammeren naar de melkgeiten stal** heeft wél een statistisch significant effect op de antistoffentiter voor paraTBC.

	<b>Parameterschatting</b>	<b>Significant</b>
<b>As-titer paraTBC</b>	-	<0.001
<b>OD-waarde CAE</b>	-	0.8698

Omdat er voor deze variabele verschillende antwoordcategorieën gedefinieerd werden, werden de paarsgewijze verschillen getest om na te gaan tussen welke categorieën er significante verschillen zijn:

- Significant verschil tussen categorie 1 (8-15 weken) en 2 (16-24 weken): p-waarde=0.0103
- Significant verschil tussen categorie 2 (16-24 weken) en 3 (25-36 weken): p-waarde= 0.002
- Significant verschil tussen categorie 2 (16-24 weken) en 4 (37 weken tot 1 jaar): p-waarde =0.0002

Bij deze analyse valt vooral het significante verschil van alle categorieën tov categorie 2 op. Het aantal dieren in deze categorie was heel laag (slechts 32 dieren). Daarom moeten we ook heel voorzichtig zijn met de interpretatie van deze gegevens omdat het resultaat zou kunnen berusten op toeval. Anderzijds beschrijft de literatuur over Gudair® vaccinaties dat antistoffen bij de meeste dieren verdwenen zijn op ongeveer 6 maanden leeftijd. Dat komt best overeen met de leeftijd van dieren in categorie 2.



Figuur 2: Antistoffen titer voor paraTBC in correlatie met de leeftijd van overbrengen van opfoklammeren naar de melkgeitenstal.

Een eveneens heel voorzichtig te interpreteren variabele is de **beschikbare staloppervlakte** per melkgeit. Deze parameter bleek net niet significant te correleren met de antistoffentiter voor CAE. Als we deze analyse interpreteren, betekent dit: *'als de beschikbare oppervlakte stijgt met 1 m<sup>2</sup>, dan zou de antistoffentiter voor CAE stijgen met 0.929 eenheden'*. Een stijgende antistoffentiter kan een vertaling zijn van een intenser contact met het circulerende virus. Ook dit is een heel tegenstrijdige bevinding aangezien fysiek contact essentieel is voor de spreiding van CAE. Het zou dan eerder logisch zijn dat de antistoffentiters stijgen bij een beperktere staloppervlakte per melkgeit.

	Parameterschatting	Significant
<b>As-titer paraTBC</b>	13.082 (sd: 58.341)	0.7568
<b>OD-waarde CAE</b>	<b>0.929 (sd: 0.431)</b>	<b>0.0636</b>

Voor lammeren, opfokgeiten en bokken werd geen significante correlatie gevonden tussen antistoffentiter voor CAE en paraTBC en beschikbare staloppervlakte.

**Stalhygiëne** heeft een effect op de antistoffentiter voor paraTBC – dit effect is niet significant, maar er is mogelijk wel een tendens:

- Wanneer er uitgemest wordt vooraleer een nieuwe groep in een potstal gehuisvest wordt, ligt de antistoffentiter 23.897 eenheden lager dan wanneer er niet wordt uitgemest.

	Parameterschatting	Significant
<b>As-titer paraTBC</b>	<b>23.897 (sd: 14.216)</b>	<b>0.1420</b>
<b>OD-waarde CAE</b>	-0.063 (sd:0.2155)	0.7777

- Wanneer de potten routinematig ontsmet worden, ligt de titer van paraTBC antistoffen 20.184 eenheden lager.

	Parameterschatting	Significant
<b>As-titer paraTBC</b>	<b>20.184 (sd:14.427)</b>	<b>0.1990</b>
<b>OD-waarde CAE</b>	-0.138 (sd: 0.202)	0.5129

Heel wat biologische geitenhouders geven regelmatig een rondleiding op het bedrijf, oa voor scholen of verenigingen. Aangezien deze **bezoekers** vaak geen landbouwachtergrond hebben, wordt er niet altijd gevraagd om bedrijfskledij aan te trekken. We vonden in dit onderzoek geen significante correlatie tussen antistoffentiters voor CAE en paraTBC en gestelde hygiëne-eisen aan de bezoekers.

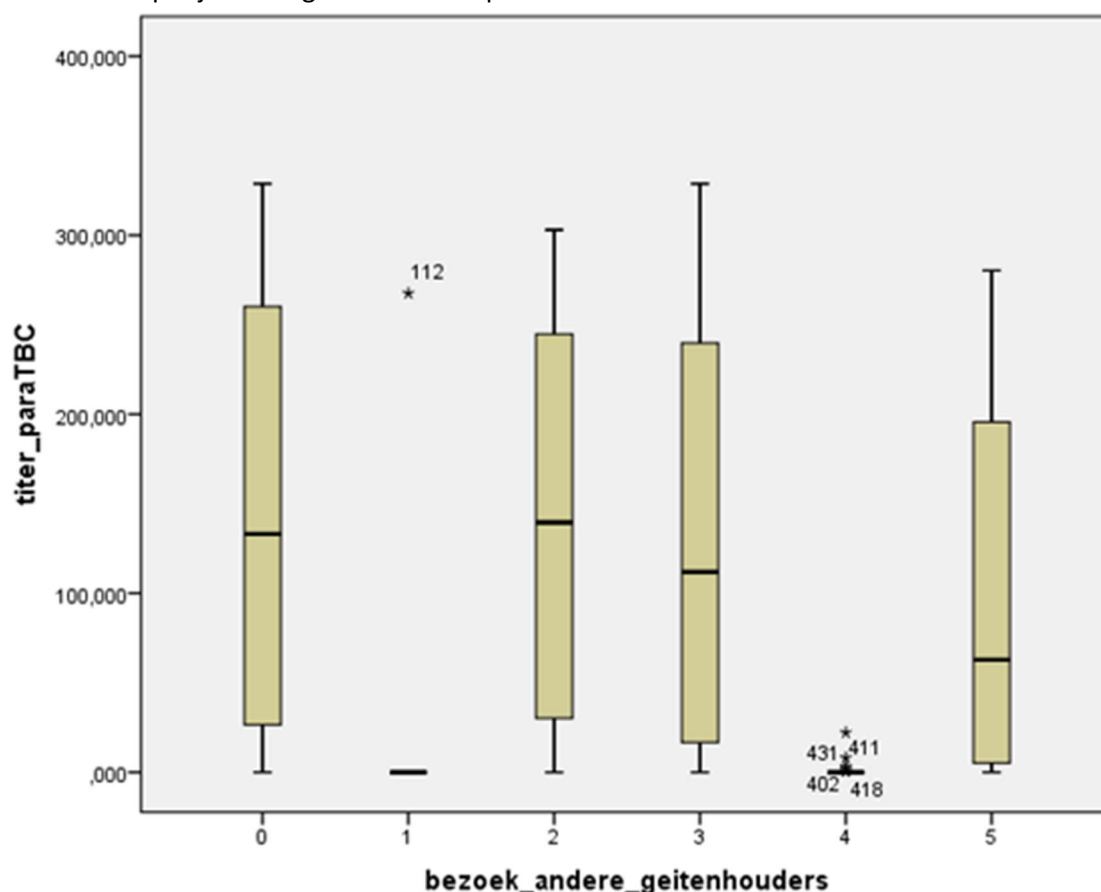
Er werd wél een significant verband gevonden tussen het **bezoek van andere geitenhouders** op het bedrijf en de antistoffentiter voor paraTBC.

	Parameterschatting	Significant
<b>As-titer paraTBC</b>	-	<b>0.0162</b>
<b>OD-waarde CAE</b>	-	0.1870

Omdat er hier verschillende antwoordcategorieën zijn, werden de paarsgewijze verschillen getest om na te gaan tussen welke categorieën er significante verschillen zijn:

- Significant verschil tussen categorie 0 (nooit) en 4 (5-10): p-waarde=0.0309
- Significant verschil tussen categorie 2 (1-2 per jaar) en 4 (5-10): p-waarde=0.0201
- Significant verschil tussen categorie 3 (5 per jaar) en 4 (5-10): p-waarde=0.0204
- Opmerking categorie 1: maar 10 waarnemingen en categorie 4: 32 waarnemingen

Interpretatie van deze resultaten moet heel voorzichtig gebeuren. Het is immers epidemiologisch niet logisch dat de antistoffentiter voor paraTBC hoger zou liggen op bedrijven waar nooit bezoek wordt toegelaten dan op bedrijven waar tot 10x per jaar een geitenhouder op bezoek komt.



Figuur 3: Correlatie tussen paraTBC-antistoffen titers en frequentie van bezoek door andere geitenhouders.

De **aankoop van bokken** heeft een bijna significant effect op de antistoffentiter voor paraTBC: indien er geen bokken worden aangekocht, ligt de titer voor paraTBC 28,001 eenheden lager. Een dergelijk effect wordt niet gezien op de antistoffentiter voor CAE.

	Parameterschatting	Significant
As-titer paraTBC	-28.001 (sd:13.324)	0.0656
OD-waarde CAE	0.201 (sd:0.197)	0.3344

Wanneer dieren na aankoop NIET in **quarantaine** worden geplaatst, zou de antistoffentiter voor paraTBC 29.084 eenheden lager uitvallen. Dit is volgens deze studie een significant effect. Maar dit is in tegenstrijd tot wat in de literatuur voor veel verschillende dierziekten wordt beschreven: quarantaine bij aankoop is een heel belangrijke manier om insleep van dierziekten in bedrijven te voorkomen.

	Parameterschatting	Significant
As-titer paraTBC	-29.084 (sd:12.169)	0.0414
OD-waarde CAE	-0.072 (sd:0.198)	0.7246

Wel een epidemiologisch logische bevinding is, dat **fysieke isolatie van zieke dieren** een significant effect heeft op de antistoffentiter van CAE. CAE infecteert de witte bloedcellen en kan daarom een effect hebben op het tot uiting komen van andere dierziekten. Zieke dieren zouden daarom ook grotere CAE-uitscheiders kunnen zijn waardoor isolatie hiervan zorgt voor minder virusoverdracht. Dit effect is groot: isoleren van zieke dieren zorgt voor een daling van de CAE OD-waarde met 0.578 eenheden.

	Parameterschatting	Significant
As-titer paraTBC	-9.033 (sd: 20.621)	0.6712
OD-waarde CAE	0.578 (sd :0.180)	0.0095

Mogelijk interessante tendensen vinden we in de bevraging rond **weidegang**. Zo kan een toegang tot de weide voor **jonge geitenlammeren** de antistoffentiter beïnvloeden: hoe jonger de lammeren zijn als ze op de weide worden gelaten, hoe lager de antistoffentiter bij de melkgeiten. Per week later op de weide, neemt de antistoffentiter met 11.302 eenheden toe.

	Parameterschatting	Significant
As-titer paraTBC	11.302 (sd:4.240)	0.1976
OD-waarde CAE	-4.211 (sd:19.680)	0.8360

Ook voor de CAE-antistoffentiter is er een tendens: hoe later het **jongvee op de weide** wordt gelaten, hoe hoger de CAE-titer. Een toename van 1 week in leeftijd doet deze titer met 0.0219 eenheden stijgen.

	Parameterschatting	Significant
As-titer paraTBC	2.059 (sd: 1.393)	0.2151
OD-waarde CAE	0.0219 (sd: 0.014)	0.1831

Er werd gevraagd naar mogelijk **contact met wilde herkauwers** op de weide en de **afstand tot naburige herkauwersbedrijven**. Voor beide mogelijke risicofactoren op insleep werden geen tendensen of significante correlaties met antistoffentiters gevonden in deze studie.

Omdat MAP een zeer resistente bacterie is in de omgeving, werd gevraagd naar de toepassing van **stalmest op de grasweiden**. Literatuur toont immers aan dat het aanbrengen van de stalmest vanuit MAP besmette bedrijven kan bijdragen tot de spreiding van deze dierziekte. In deze studie werd hier geen significant effect gevonden indien eigen geitenmest wordt uitgereden op de grasweiden van de melkgeiten, er is wel een tendens: indien er eigen stalmest gebruikt wordt om de grasweide te bemesten, dan ligt de antistoffentiter voor paraTBC 21.413 eenheden hoger.

	Parameterschatting	Significant
As-titer paraTBC	21.413 (sd:13.784)	0.1571
OD-waarde CAE	-0.241 (sd: 0.183)	0.2210

Wanneer rundveemest wordt gebruikt om de weiden te bemesten, is deze tendens er helemaal niet.

	<b>Parameterschatting</b>	<b>Significant</b>
<b>As-titer paraTBC</b>	2.645 (sd: 18.656)	0.8911
<b>OD-waarde CAE</b>	0.065 (sd:0.231)	0.7847

Uit de prevalentiestudie bleek dat op bedrijven die niet **vaccineren met Gudair®** het aantal paraTBC -positieve dieren beduidend lager is. Als we kijken naar de antistoffentiter van individuele dieren, zien we dat paraTBC positieve dieren die NIET gevaccineerd zijn, een hogere antistoffentiter vertonen. Deze correlatie is niet significant, maar de parameterschatting is wel relatief groot: wanneer er niet gevaccineerd wordt, ligt de antistoffentiter voor paraTBC 27.320 eenheden hoger.

	<b>Parameterschatting</b>	<b>Significant</b>
<b>As-titer paraTBC</b>	<b>27.320 (sd: 17.360)</b>	<b>0.1555</b>

Ook niet significant, maar wel een tendens: hoe langer er gewacht wordt om de lammeren te vaccineren, hoe lager de antistoffentiter van de volwassen dieren is.

	<b>Parameterschatting</b>	<b>Significant</b>
<b>As-titer paraTBC</b>	<b>-1.780 (sd: 0.986)</b>	<b>0.1179</b>

Corresponderend met de literatuur vinden we een tendens die aangeeft dat het gebruik van eenzelfde **injectienaald** voor meerdere dieren aanleiding geeft tot een hogere antistoffentiter voor CAE.

	<b>Parameterschatting</b>	<b>Significant</b>
<b>As-titer paraTBC</b>	8.030 (sd: 15.102)	0.6095
<b>OD-waarde CAE</b>	<b>0.256 (sd:0.181)</b>	<b>0.1920</b>

Het geven van **moederbiest** aan de lammeren, toont in deze studie geen correlatie met de antistoffentiter voor zowel paraTBC als CAE. Voor CAE is dit in tegenspraak met de literatuur, waarin onbehandelde biest en moedermelk als belangrijkste risicofactor voor spreiding gezien wordt. Ook voor de spreiding van MAP bij rundvee worden moederbiest- en melk als belangrijke risicofactoren gezien. Voor geiten wordt moedermelk als risicofactor gezien, maar blijkt geitenbiest slechts heel uitzonderlijk MAP-bacillen te bevatten (Lievaart-Peterson et al. (2019).

	<b>Parameterschatting</b>	<b>Significant</b>
<b>As-titer paraTBC</b>	-2.856	0.8577
<b>OD-waarde CAE</b>	0.117 (sd: 0.197)	0.5668

Subdoelstellingen	Verwachte resultaten	Prestatie-indicatoren
<b>AD1:</b> inzicht in verspreiding van CAE, paraTBC en CL	Plan van aanpak per bedrijf	- Algemeen management advies voor melkgeitenbedrijven op basis van binnen-bedrijfsprevalentie en risicofactoren Gericht management advies per bedrijf op basis van binnen-bedrijfsprevalentie en risicofactoren

## Algemeen managementadvies voor melkgeitenbedrijven

Algemene richtlijnen om het management op het bedrijf aan te pakken met een verlagen van de prevalentie van paraTBC en/of CAE als doel, werden met de geitenhouder besproken tijdens het afnemen van de enquête voor risicofactoren. Hieronder volgt een opsomming van de belangrijkste richtlijnen.

### Voor paraTBC

Management aanpassingen om spreiding van MAP te verminderen:

- Contact vermijden tussen niet-geïnfecteerde dieren en geïnfecteerde oudere dieren
  - o Lammeren wegnemen van het moederdier op het moment van geboorte
  - o Deze lammeren enkel MAP-vrije biest geven en vervolgens melkvervanger
  - o Het jongvee laten opgroeien in een aparte omgeving – gescheiden van de melkgevende geiten
  - o Geen stalrest toedienen op weiden waar de geiten (en dan vooral de jonge geiten) grazen
  - o Zorg voor buitenbeloop voor alle dieren op zo jong mogelijke leeftijd
  - o Hygiëne-standaarden op het bedrijf verhogen
  - o Voorkomen dat geïnfecteerd voedsel of materiaal in contact komt met gevoelige dieren
  - o Enkel dieren aankopen van bedrijven met een MAP-vrije status of controleer (serologisch of isolatie) de dieren bij aankomst in het bedrijf en hou ze in quarantaine.
- MAP is heel resistent in de omgeving en kan daar meerdere jaren overleven (Koets et al., 2019).

Test and cull strategie: (Bastida and Juste, 2011)

- Gouden standaard is **isolatie van MAP** in mest: dit heeft een onmiddellijk voordeel omdat dieren die MAP uitscheiden substantieel bijdragen aan de contaminatie van de omgeving en uiteindelijk toch chronisch ziek worden zonder te kunnen herstellen. Snelle opruiming van deze uitscheiders heeft heel veel voordelen voor het bedrijf. Het grote nadeel van MAP-isolatie als diagnostische tool, is dat de test duur is, moet gebeuren in een gespecialiseerd labo en tot 16 weken op zich kan laten wachten. Deze nadelen overwegen en zijn niet motiverend voor de geitenhouder. Een bijkomend nadeel, vooral in bedrijven met een hoge infectiedruk, is dat een aantal dieren positief zullen testen omdat MAP op het moment van staalname ‘passeert’ doorheen te darm zonder infectie te veroorzaken in de darm. Kiemisolatie tekent daarom positief terwijl het dier niet geïnfecteerd is – er zal een gezond dier worden opgeruimd. PCR op mest heeft hetzelfde nadeel.
- **ELISA testen voor paraTBC antistoffen** zijn doorgaans zeer specifiek, maar weinig sensitief – er zullen bij de doorlichting van een bedrijf heel wat vals – negatieven aan de maatregelen ontsnappen. Daardoor is er te weinig garantie dat de test een geschikte tool is om paraTBC te eradiceren van een bedrijf. Verder is de test zeer geschikt voor routinematig gebruik omwille van de lage kostprijs, de vlotte en snelle uitvoerbaarheid. Wanneer de test herhaaldelijk uitgevoerd wordt op een bedrijf, gevolgd door het verwijderen van de positieve dieren, zal dit als resultaat hebben dat er minder klinische manifestaties van paraTBC zijn en de verspreiding van MAP zal een beetje verminderen. Dit is de strategie die in de rundveehouderij (melkvee) wordt toegepast. Een groot nadeel van deze test is dat er geen onderscheid gemaakt wordt tussen antistoffen die opgewekt worden door

circulerende MAP en door vaccinatie. Aangezien de meerderheid van de biologische geitenhouders vaccineert, is het gebruik van ELISA geen goede strategie om te beslissen welke dieren er bijdragen tot MAP-uitscheiding en dus best worden opgeruimd.

- **PCR op mest** maakt het mogelijk om MAP-positieve dieren sneller te detecteren, nog voor er antistoffen gevormd worden. Wanneer dergelijke dieren geruimd worden, zal dit in belangrijke mate de infectiedruk op het bedrijf reduceren. Er is met deze test ook een mogelijkheid om te kwantificeren – en dus kunnen superverspreiders en beperkte verspreiders onderscheiden worden. Er bestaat wel kans op vals-positieve uitslagen en dus ruiming van gezonde dieren, zoals ook aangegeven bij 'isolatie van MAP'. Een ander nadeel zijn de kosten verbonden aan deze test.

Vaccinatie: is een zeer kosten-efficiënte strategie die de klinische symptomen van paraTBC zeker voorkomt. Een groot nadeel van vaccinatie is dat de antistoffen die ermee opgewekt worden, niet kunnen onderscheiden worden van antistoffen die opgebouwd worden tegenover circulerende MAP en zelfs tuberculose bacillen. Vaccinatie is daarom niet combineerbaar met nationale eradicatieprogramma's voor TBC én paraTBC. Dit is de reden waarom vaccinatie zelden wordt toegepast in de rundveesector en eveneens de reden dat paraTBC-vaccins zeer simpel ontworpen zijn en geen optimale immuniteit opwekken. Er zijn veel verbetermogelijkheden voor deze vaccins.

Bij schapen zorgt vaccinatie met Gudair® voor ongeveer 90% reductie van de mortaliteit. Maar eveneens blijkt dat sommige gevaccineerde schapen MAP nog steeds uitscheiden in de mest (de Silva et al., 2014).

In hun review geven ook Bastida en Juste (2013) aan dat vaccinatie tegen MAP een waardevolle methode is om omgevingscontaminatie met deze bacterie te verminderen en daarnaast ook het productieverlies en vervroegde opruiming die het gevolg zijn van de ziekte te verminderen of uit te stellen. Maar vaccinatie slaagt er niet in om infecties volledig te voorkomen.

## Voor CAE:

**Maedi-Visna virus (MVV) en Caprine arthritis en encephalitis virus (CAEV)** zijn de prototypes van een groep virussen die schapen en geiten infecteren en sinds kort gegroepeerd worden als lentivirussen van de kleine herkauwers (small ruminant lentiviruses, SRLV). Deze virussen worden gekenmerkt door grote genetische verschillen en zijn 'trage virussen' die meerdere jaren in een dier aanwezig kunnen zijn zonder symptomen te veroorzaken. Besmette dieren bouwen antistoffen op tegen deze virussen, maar ook dit verloopt traag en is variabel in intensiteit. Dit bemoeilijkt de diagnostiek. Infectie van schapen en geiten door deze virussen leidt tot economische verliezen (gewichtsverlies, lagere melkproductie – tot 25%, handelsbeperkingen, versnelde ruiming) en deze traag voortschrijdende ziekte veroorzaakt symptomen als uierontsteking, longontsteking, gewrichtsontsteking, verlamingsverschijnselen die starten aan de achterhand en uitbreiden naar de voorhand en soms hersenontstekingen. In een geïnfecteerde geitenkudde, zijn het vooral de 'dikke voorknieën' die opvallen, bij schapen vooral de 'zwoegende ademhaling'. Al deze symptomen hebben een belangrijke impact op het dierenwelzijn van geïnfecteerde dieren. Vaak worden de symptomen echter pas verschillende jaren na de infectie duidelijk en zijn de productieverliezen moeilijk meetbaar waardoor er momenteel slechts beperkt aandacht aan deze virussen besteed wordt (Blacklaws, 2012; Peterhans et al., 2004). Geiten besmet met CAE, zijn vaak gevoeliger voor andere ziekten zoals paraTBC, ademhalingsaandoeningen en maag darm parasieten. Het herstel na een andere dierziekte kan langer duren indien het dier SRLV-geïnfecteerd is.

Met virus besmette biest of melk is een zeer efficiënte transmissieweg voor deze lentivirussen (Rowe and East, 1997). Eén slok geïnfecteerde melk is voldoende om infectie bij een jong lam te veroorzaken. Hoe jonger de dieren wanneer ze in contact komen met het virus, hoe groter de kans op besmetting. Het afweersysteem van hele jonge dieren is nog niet volledig ontwikkeld en daarom zijn deze jonge dieren gevoeliger aan een infectie.

Besmette, drachtige oaien of geiten geven het virus niet door tijdens de dracht omdat SRLV niet doorheen de placenta kunnen. Er is een kleine kans dat lammeren besmet raken tijdens het geboorteprocés zelf.



In het dier hechten de SRLV zich vast aan witte bloedcellen. Deze cellen migreren via de bloedbaan doorheen het ganse lichaam en kunnen daardoor ook teruggevonden worden in allerhande secreten zoals melk, bronstslim, neus- en ooguitvloeï en sperma. Bokken blijken in bedrijven nochtans geen belangrijke rol te spelen in infectie-overdracht. Bloed is ook een transmissiebron – het gebruik van eenzelfde injectienaald voor meerdere dieren kan leiden tot virusoverdracht. Virusoverdracht is intenser in bedrijven waar dieren intensief en vaak op stal gehouden worden. In grazende kuddes lijkt overdracht van dit virus duidelijk kleiner. Daarom vindt men in meerdere Europese studies lagere besmettingspercentages terug in schapenbedrijven (vaker extensief gehouden) vs. melkgeitenbedrijven.

Het virus kan eventueel overgedragen worden via bevulde handen, schoeisel en kledij – maar vooral ook via de melkinstallatie.

Om spreiding op bedrijven te voorkomen, is het belangrijk om een goed zicht te hebben op de SRLV-status van alle dieren. Elk aanwezig dier ouder dan 12 maanden zou daarom gediagnostiseerd moeten worden via het opsporen van antistoffen in een bloedstaal.

Hoe CAE/zwoegerziekte-vrij geraken op de geïnfecteerde bedrijven?

- ‘Test and cull’:
  - o Alle dieren >12 maanden worden gescreend op aanwezigheid van CAE-antistoffen
  - o De positieve dieren worden zo snel mogelijk geruimd
  - o Drachtige en positieve dieren kunnen eventueel geïsoleerd worden van de rest van de kudde en worden pas van het bedrijf verwijderd na aflammeren.
  - o Haal pasgeboren lammeren zo snel mogelijk weg bij de moeder en huisvest ze in een hygiënische omgeving, minstens afgescheiden van het moederdier door een volle wand.
  - o Herhaaldelijk opnieuw testen om het effect van het eradicatieprogramma op te volgen en telkens positieve dieren ruimen is hier een noodzaak. Hiervoor neem je best deel aan een controleprogramma, zoals o.a. bij DGZ of GD.
- Onmiddellijk opvangen bij geboorte en overbrengen van de pasgeboren lammeren naar een nieuwe locatie. Geboortestlijm wordt zo goed mogelijk verwijderd en/of de pasgeboren lammeren worden gewassen.
  - o Volledig gescheiden qua management
  - o Er worden op deze manier dus 2 gescheiden kuddes gecreëerd – beide kuddes moeten van elkaar gescheiden zijn door minstens een dichte wand. Fysiek contact moet absoluut vermeden worden.
  - o Een goed uitgewerkt bioveiligheidsplan is noodzakelijk en het bedrijf moet strikt gesloten opereren. Voorzie bv. in een 2<sup>de</sup> oormerktang, drenchpistolen, ...
  - o Test de lammeren op aanwezigheid van CAE-antistoffen vooraleer deze dieren over te brengen naar de negatieve kudde melkgevende geiten.
  - o Op elk moment dat nieuwe CAE-vrije lammeren bij de negatieve melkgevende kudde gevoegd worden, kunnen de oudste dieren uit het oorspronkelijk positieve bedrijf geruimd worden. Het eradicatieproces versnelt wanneer er telkens een ganse leeftijdsgroep geruimd wordt - dus ook de negatieve dieren van die leeftijdscategorie.
  - o Indien er gemolken wordt met 1 melkinstallatie, melk dan het ‘nieuwe negatieve bedrijf’ eerst en vervolgens het originele, eventueel nog geïnfecteerde bedrijf. Melk is voor CAE een heel goed medium om het virus over te brengen – het contact met melk door de geiten moet daarom vermeden worden, zorg bv. dat gemorste melk zo snel mogelijk wordt opgekuist. Een goed uitgewerkt en uitgevoerd melkprotocol is hier een noodzaak! Zorg voor een grondige reiniging van melkinstallatie na elke melkbeurt.
  - o Blijf dezelfde strikte bioveiligheidsmaatregelen volgen totdat het oorspronkelijke positieve bedrijf volledig geruimd is.
  - o Test opnieuw alle dieren in het negatieve bedrijf om deze status te bevestigen.
  - o Doe een grondige reiniging en desinfectie van het oorspronkelijke bedrijf alvorens de negatieve kudde toegang te verlenen tot deze ruimten.

Het vrij raken van SRLV kan meerdere jaren duren. De snelheid is afhankelijk van het aantal geïnfecteerde dieren bij de start van het eradicatie-programma, de snelheid van opruimen/isoleren van positieve dieren en van het aantal maanden interval tussen het hertesten van de ganse kudde. Hoe sneller, bv. elke 3 maanden, hoe sneller de kudde SRLV-vrij raakt.

#### Wat betekent een positieve test?

Het dier heeft antistoffen aangemaakt tegenover het CAE-virus. Omdat dit virus zich hecht aan de witte bloedcellen die een essentiële rol spelen in de afweer van het dier, zal het dier er niet in slagen het virus uit zijn lichaam op te ruimen. Daarom zal een dier dat CAE-antistoffen heeft aangemaakt ook steeds nog virus in zich dragen en kunnen bijdragen tot de verdere verspreiding ervan.

#### Wat betekent een negatieve test?

Het dier heeft geen antistoffen aangemaakt tegenover het CAE-virus. Redenen hiervoor kunnen zijn dat het dier niet geïnfecteerd is met dit virus of dat het dier te recent geïnfecteerd geweest is en nog geen detecteerbare antistoffen ertegen heeft aangemaakt.

## Gericht management advies op basis van binnen-bedrijfsprevalenties en risicofactoren.

Aan de hand van de berekende binnen-bedrijfsprevalenties – de leeftijd effecten en de correlaties van risicofactoren werd in overleg met dierenarts Peter Vermoesen (DAP Lintjeshof), Johan Devreese en Wim Govaerts een overzicht gemaakt voor een mogelijk plan van aanpak op de biologische melkgeitenbedrijven. Dit plan van aanpak werd teruggekoppeld naar de geitenhouders tijdens het biobedrijfsnetwerk op 20 december 2018 (ppt in [Bijlage 3](#) van dit verslag).

### Voor paraTBC:

- Strikt gescheiden opfok – MAP wordt uitgescheiden via geitenmelk
- Omdat stof een belangrijke rol speelt in de spreiding van deze bacterie, is het belangrijk hiermee rekening te houden
  - Lammeren zouden eigenlijk in een aparte stal (fysieke scheiding, maar ook geen gedeelde lucht) moeten gehuisvest worden, vanaf de geboorte.
  - In deze lammer-, opfokstal is het aan te raden om aparte kledij, laarzen en materiaal te voorzien
- Moedereigen / bedrijfsbiest kan gebruikt worden\* - zie wel voorwaarden bij CAE
- Gebruik geen stalmest om de graasweiden te bemesten – MAP overleeft lang in mest en zo raken ook de weiden besmet.
- Bokken blijken vaak positief te testen voor paraTBC – test je bokken alvorens ze in je kudde te laten. Positieve dieren niet laten dekken en zo snel mogelijk uit het bedrijf halen.

### Voor CAE:

Op basis van de binnen-bedrijfsprevalenties kunnen de 11 bio geitenbedrijven in 3 types gedeeld worden:

- CAE-negatieve bedrijven – 4 bedrijven: blijf programma volgen/ sluit aan en zorg voor CAE-vrij certificaat (1 bedrijf). Deze bedrijven kunnen moedereigen/ bedrijfseigen biest gebruiken\*.
- CAE-positieve bedrijven = binnenbedrijfsprevalentie van 10-16% - 3 bedrijven:
  - Deze bedrijven kunnen vrij vlot CAE-vrij raken indien ze een certificeringsprogramma bij DGZ/GD doorlopen. Deze bedrijven werd dan ook geadviseerd om hieraan deel te nemen. In een

tijdspanne van 2 jaar kunnen deze bedrijven erin slagen om vrij te raken van CAE, mits doorgedreven testen van alle dieren en snel ruimen van de positieve dieren.

- Een 2de optie die trager verloopt maar budget vriendelijker is, bestaat uit het testen van alle drachtig jongvee vlak voor aflammeren. Van negatieve dieren kan moedereigen biest gebruikt worden, indien gewenst. Enkel strikt fysiek gescheiden opfok van de lammeren zal toelaten een negatieve naast een positieve kudde te houden – zie beschrijving onder algemene maatregelen. De plaats met het meeste risico op virus-overdracht is de melkstal. Daarom is het belangrijk de negatieve dieren eerst te melken en daarna pas de oudere, eventueel positieve dieren. De melkinstallatie moet zeker tussen alle melkbeurten intensief gereinigd worden. Er mag dan ook niet gevoederd worden in de melkstal omdat het virus via speeksel kan overgedragen worden.
- Het gebruik van bedrijfseigen biest is mogelijk op deze bedrijven mits testen van deze biest op aanwezigheid van CAEV\*. Dit is kostelijk en vraagt een strikte opvolging. Om de kosten te beperken was het advies als volgt:
  - Kies voor biest van opfokgeiten omdat deze de kleinste kans hebben om besmet te zijn en de biest is van betere kwaliteit (minder bacteriën in uier die antistoffen opgebruiken)
  - Laat de groep van opfokgeiten als eerste dekken en dus aflammeren --> aanleggen van biestvoorraad voor alle lammeren = creëer reserve van bedrijfseigen biest.
  - Gebruik geen biest van positieve dieren - tenzij voor de bokjes
  - Van negatieve dieren wordt de biest best verzameld – apart en NIET gepooled en deze kan dmv PCR getest worden op aanwezigheid van CAE. Positieve biest kan gebruikt worden voor de bokjes – de negatieve biest wordt bewaard (in diepvries) voor de miekes.
- Beperk de aankoop van geiten – zeker van bedrijven met ongekende CAE-status. Bokken blijken vaak CAE-positief te zijn en CAEV kan via het sperma worden overgedragen. Laat de nieuwe bok daarom altijd testen alvorens hem in de geitenkudde toe te laten.
- CAE-positieve bedrijven = binnenbedrijfsprevalentie van +60% - 4 bedrijven. Op deze bedrijven zijn er meerdere opties – de aanpak en de effecten op het bedrijf zijn vaak drastischer:
  - Probeer geleidelijk aan de CAE-prevalentie te verlagen door het wegnemen van de lammeren onmiddellijk na de geboorte, gebruik van kunstbiest (moederbiest/bedrijfsbiest is hier absoluut af te raden), zorgen voor een strikte fysieke afscheiding, één injectienaald per dier, .... zie verder algemene maatregelen
  - Ruimen en herbevolken van het bedrijf
  - Intensief dieren testen en enkel verder fokken met de negatieve dieren – strikte scheiding lammeren van oudere dieren.
    - Testen is een noodzaak om CAE-vrij te raken. Als men een snelle progressie wil, moet de ganse kudde om de 4 maanden getest worden – de positieve dieren zo snel mogelijk ruimen, zeker niet meer laten dekken – eventueel drachtige dieren laten aflammeren en melken, maar dan op een aparte locatie.
    - Strikt gescheiden opfok: andere kledij, handen wassen, andere voederwagen, geen restvoeder naar de lammeren, gebruik van andere naalden – 1 per individu
    - Zeer strikte moederloze opfok
    - Enkel opfok laten dekken – en deze dieren testen op CAE: positieve dieren zo snel mogelijk weg uit het bedrijf.
    - Kiezen voor kunstbiest.
  - Niets doen ... Er werd duidelijk meegedeeld dat bedrijven waar niets ondernomen wordt om de CAE-prevalentie te verminderen, de prevalentie vermoedelijk met verloop van tijd verder zal toenemen.

\* het gebruik van moedereigen-/ bedrijfseigen biest werd geadviseerd omdat toen op basis van GD-onderzoek bleek dat MAP bij geiten slechts heel uitzonderlijk werd uitgescheiden via de biest (Lievaart-Peterson et al. 2019).

Ondanks het hele goede nieuws dat dit onderzoek bracht, was het voor de geitenhouders niet overtuigend genoeg om gerust moedereigen-/ bedrijfseigen biest te gaan gebruiken. Ze vroegen om meerdere bieststalen te onderzoeken om de afwezigheid van MAP in geitenbiest te bevestigen. Een deel van het budget van dit onderzoeksproject werd daarom vrij gemaakt voor onderzoek naar MAP in geitenbiest – zie verder.

## Biest of colostrum – welke opties zijn er?

Voor het geven van colostrum aan jonge lammeren zijn er meerdere opties – afhankelijk van de infectiestatus van het bedrijf:

- Moedereigen biest
- Bedrijfseigen biest
- Gepasteuriseerde biest
- Geitenbiest van een bedrijf negatief voor CAE en paraTBC
- Rundveebiest van een paraTBC-vrij bedrijf
- Kunstbiest

Op paraTBC, CAE en CL-negatieve bedrijven heeft het geven van **moedereigen biest** de absolute voorkeur. Binnen dit onderzoek werd moederbiest op 4 biobedrijven gegeven aan ten minste een deel van de lammeren. Biest bevat naast antistoffen (in hoofdzaak IgG) immers ook witte bloedcellen en andere bioactieve stoffen. De witte bloedcellen zullen enkel hun nut bewijzen in het lam wanneer de biest vers gegeven wordt en wanneer ze van het eigen moederdier afkomstig zijn. Indien de biest afkomstig is van een andere geit, zullen deze door het lam beschouwd worden als 'lichaamsvreemd' en vernietigd worden. Ook invriezen vernietigt deze witte bloedcellen.

Onder **bedrijfseigen biest** verstaan we het gebruik van biest die afkomstig is van een subgroep van dieren binnen het bedrijf die het minste risico opleveren om een dierziekte door te geven. Typisch worden hiervoor de jongste dieren geselecteerd. Dit wordt toegepast op 2 biologische melkgeitenbedrijven. De biest van deze groep dieren wordt verzameld en verdeeld over alle (vrouwelijke) lammeren. Bij het geven van bedrijfseigen biest, zijn het de antistoffen en bioactieve stoffen die belangrijk zijn om het jonge lam te beschermen. Witte bloedcellen zullen hier geen rol meer kunnen spelen.

Op de mogelijkheden en tekorten bij het gebruik van **gepasteuriseerde biest**, wordt later ingegaan.

Het gebruik van **geitenbiest** afkomstig van een ander geitenbedrijf dat vrij is van CAE en paraTBC is een mogelijkheid, maar deze wordt niet toegepast in België. Belangrijkste reden hiervoor is dat de paraTBC-status van de bedrijven meestal niet gekend is + het is heel moeilijk en kostelijk om een bedrijf met zekerheid een paraTBC-vrije status toe te wijzen. CAE- en CL-status is makkelijk aan te tonen mits het bedrijf gecertificeerd vrij is. Daarnaast zijn de antistoffen die aanwezig zijn in biest vaak bedrijfsspecifiek. Het gebruik van geitenbiest afkomstig van een ander bedrijf is daarom minder goed dan het gebruik van bedrijfseigen biest. Er is steeds een risico op insleep van (andere) dierziekten.

**Rundveebiest** van paraTBC-'vrije' bedrijven wordt vaker toegepast - ook bedrijf 1 van deze studie gebruikt dit type biest. In België loopt een programma om paraTBC in de rundveehouderij te bestrijden – dit programma wordt ondersteund door de melkerijen. Het is gebaseerd op ELISA (dus antistoffen) testen waarbij positief testende dieren geruimd worden. Maar ook bij rundvee geeft 46,1% van de dieren geen detecteerbare signalen die wijzen op MAP-infectie (Bastida and Juste, 2013), zoals ook af te lezen valt van Figuur 1. We kunnen daarom ook niet spreken van paraTBC-vrije rundveebedrijven! In het controleprogramma deelt men de bedrijven daarom

ook in in klassen, waarbij in klasse A geen antistoffen werden teruggevonden. In rundveebiest zijn bedrijfsspecifieke en diersoortspecifieke antistoffen afwezig.

**Kunstbiest** is veruit de meest gebruikte variant. In dit onderzoek werd het gebruikt op 6 van de 11 biologische bedrijven. Ook in de gangbare melkgeitensector is het gebruik van kunstbiest frequent.

De grote voordelen van kunstbiest zijn de afwezigheid van het risico voor spreading van CAEV, MAP en *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Het kiemgetal is normaal laag indien de bereide biest wordt bewaard bij 4°C. Indien dit niet gebeurt wordt ook kunstbiest een broeihaard van allerlei bacteriën, vergelijkbaar met echte biest. Daarnaast levert het gebruik van kunstbiest meer arbeidsgemak in vergelijking met het gebruik van (bedrijfseigen) geitenbiest en rundveebiest. Indien de kunstbiest wordt aangelengd volgens de instructies van de producent, bevat deze ook voldoende antistoffen (IgG). Ook dit blijkt niet altijd zo te zijn bij echte geitenbiest – zie verder.

Maar er zijn ook nadelen verbonden aan het gebruik van kunstbiest. Dit zijn enerzijds de kostprijs en anderzijds de éézijdige samenstelling. De producenten van kunstbiest focussen op nutriënten (vet – eiwit – suikers – vitamines en mineralen) en uiteraard ook op het IgG-gehalte. Maar in geitenbiest zijn naast deze nutriënten en antistoffen ook witte bloedcellen en bioactieve stoffen aanwezig. Die bioactieve stoffen blijken vrij typisch voor geitenbiest en komen in beduidend mindere mate voor in rundveebiest en helemaal niet in kunstbiest. Onder deze bioactieve stoffen verstaan we: hormonen, groeifactoren, cytokines, bioactieve peptiden, enzymen (chitotriosidase), oligosacchariden en polyamines (Moreno-Indias et al., 2012; Galitsopoulou et al., 2015; Marzali et al., 2018). Het belang van deze heel diverse moleculen voor de gezondheid van het lam hebben we helemaal niet goed in beeld. De bestaande kennis is vergaard vanuit een humaan perspectief. Geitencolostrum en geitenmelk zijn heel gegeerd om te gebruiken in menselijke babymelkpoeders. De belangrijkste redenen daarvoor zijn de grote overeenkomsten tussen menseniest/-melk en geitenbiest/-melk – ook op vlak van deze bioactieve stoffen. Het gebrek van deze bioactieve stoffen in kunstbiest (en rundveebiest) is vermoedelijk een belangrijke verklaring waarom geitenlammeren het nooit zo goed doen indien kunstbiest (en kunstmelk) wordt gebruikt. Geitenhouders kunnen dit perfect vergelijken omdat er voor de vrouwelijke lammeren vaak beslist wordt om kunstbiest te gebruiken, terwijl de mannelijke lammeren moedereigen geitenbiest krijgen. Deze boklammetjes groeien vaak veel beter en zijn gezonder (persoonlijke mededeling van verschillende geitenhouders).

Subdoelstellingen	Verwachte resultaten	Prestatie-indicatoren
<b>AD1:</b> inzicht in verspreiding van CAE, paraTBC en CL	Diagnostische waarde van ELISA en PCR op melk voor detectie van CAE	- Bijkomende analyse van 310 melkstalen met ELISA voor CAE – door CODA Bijkomende analyse van 20 bloedstalen en 20 melkstalen per bedrijf met PCR voor CAE – door CODA

De resultaten van het onderzoek over ‘de diagnostische waarde van ELISA en PCR op melk voor detectie van CAE’ werden beschreven in de publicatie ‘(Non-)Sense of milk testing in SRLV control programs in goats. Comparative analysis of antibody detection and molecular diagnosis in blood and milk – Adjadj et al. - 2020. Opgenomen in dit verslag als [Bijlage 4](#).

Subdoelstellingen	Verwachte resultaten	Prestatie-indicatoren
<b>AD2:</b> inzetbaarheid van kiemvrije bedrijfseigen biest	<p>Methodieken voor toepassing op bedrijf:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Verhitten van biest waarbij de verhittingstijd en –temperatuur noodzakelijk om biest vrij te maken van CAEV, MAP en <i>C. pseudotuberculosis</i>, uitgaande van diepgevroren biest zal gekend zijn</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Lijst van geschikte recipiënten voor het portiegewijs invriezen en ontdooien van biest</li> <li>- Bieststalen van verschillende geiten met hoge antistoffen titers tegen MAP, CAEV en <i>C. pseudotuberculosis</i> verzameld en ingevroren</li> <li>- Analyse van 100 verhitte bieststalen op aanwezigheid van MAP, CAEV en <i>C. pseudotuberculosis</i></li> <li>- Op het bedrijf toepasbaar protocol, met specificaties over temperatuur en tijdsduur, voor het ontdooien en verhitten van biest in een vooraf bepaald recipiënt en volume</li> </ul>

## MAP uitscheiding in geitenbiest

Het gebruik van bedrijfseigen – en bij voorkeur moedereigen – biest lijkt mogelijk op bedrijven die CAE-negatief gecertificeerd zijn of op bedrijven met een lage (<20%) CAE-prevalentie mits voorwaarden zoals vernoemd onder ‘management adviezen’. Mits diagnostiek voor CAE-antistoffen op bloed van jonge dieren op het einde van de dracht, zou ook het gebruik van deze biest kunnen overwogen worden om te verdelen over de vrouwelijke lammeren. Voor bedrijven waar de CAE-prevalenties hoger liggen dan 60% is het gebruik van bedrijfseigen biest sterk af te raden. Het zou resulteren in nog hogere CAE-prevalenties.

Bij de aanvang van dit onderzoek werden de resultaten van onderzoek uit Nederland (GD) bekend waaruit bleek dat MAP nauwelijks zou worden uitgescheiden in geitenbiest (Lievaart-Peterson et al., 2019) – dit in tegenstelling tot runderbiest waar MAP duidelijk in aanwezig is. In geitenbiest werd MAP enkel gedetecteerd in 2 bieststalen van klinisch zieke dieren – overeenkomend met 1% van de geteste bieststalen. MAP detectie werd uitgevoerd met qPCR. Aangezien de positieve stalen afkomstig waren van dieren met klinische symptomen, bood deze kennis de mogelijkheid om moedereigen biest aan de lammeren te geven, rekening houdend met de CAE-prevalentie op het bedrijf.

Deze resultaten vanuit GD werden voorgelegd aan de geitenhouders, de stuurgroepleden voor dit project en een aantal dierenartsen met geitenbedrijven in begeleiding. De impact van deze bevinding op het biestmanagement op een bedrijf kan groot zijn. Maar vanuit de verschillende belanghebbenden overheerste toch ook nog twijfel rond deze resultaten en wou men graag meer zekerheid. Daarom werd besloten om een deel van het projectgeld te besteden aan MAP detectie in geitenbiest. In overleg met Marc Heyndrickx (ILVO Food Pilot) werd besloten om gebruik te maken van MAP isolatie in plaats van qPCR omdat er in biest veel interfererende componenten aanwezig zijn die vals-negatieve resultaten kunnen opleveren bij het gebruik van qPCR. De gevoeligheid van MAP-isolatie ligt 100x hoger dan de gevoeligheid van qPCR.

De isolatietechniek voor geitenbiest moest op punt gesteld worden - ILVO Food Pilot had ervaring opgedaan met MAP isolatie vanuit rundveebiest.

Aan een aantal geitenhouders werd gevraagd om tijdens het lammerseizoen van 2019 bieststalen te verzamelen van geiten die seropositief getest hadden tijdens de seroprevalentiestudie het jaar ervoor. Voor staalname werd elk bedrijf voorzien van wegwerphandschoenen, 50 ml tubes en ontsmettende doekjes om handen en spenen te ontsmetten vóór staalname. Er werd ook een Brix refractometer gekocht voor elk bedrijf om een inschatting te kunnen maken van de biestkwaliteit.

Op 4 bio geitenbedrijven (bedrijf 4, bedrijf 5, bedrijf 8 en bedrijf 10) werden 38 bieststalen verzameld van seropositieve dieren. Er waren 4 stalen **positief voor MAP = 4/38 = 10,5%**. De MAP-positieve bieststalen waren afkomstig van 3 bedrijven die alle 3 vaccineren met Gudair®. Hieruit kunnen we duidelijk besluiten dat MAP wél wordt uitgescheiden in biest van klinisch gezonde dieren én dat vaccinatie deze uitscheiding niet (volledig) voorkomt.

Omwille van dit toch wel verrassende resultaat, werd aan het departement Landbouw en Visserij gevraagd om het budget dat voorzien werd voor verder CL-onderzoek te mogen besteden aan een MAP-isolatie van extra bieststalen. Dit werd goedgekeurd en de project-einddatum werd verschoven naar 31 juli 2020.

Er werd opnieuw aan een aantal geitenhouders gevraagd om bieststalen te verzamelen tijdens het voorjaar 2020. Omdat het te moeilijk werd om opnieuw bieststalen van de seropositieve geiten te verzamelen, mochten er ad random bieststalen genomen worden van lammerende geiten. De geitenhouders werden voorzien van het nodige materiaal voor hygiënische staalname.

In 2020 werden 57 bieststalen verzameld op 6 geitenbedrijven (bedrijf 5, bedrijf 7, bedrijf 9, bedrijf 10, bedrijf 11 en bedrijf 12). Er waren 7 stalen **positief voor MAP = 7/57 = 12,3%**. De MAP-positieve bieststalen waren afkomstig van 3 bedrijven waarvan 2 bedrijven vaccineren met Gudair®. Op bedrijf 9 werd niet gevaccineerd en op dit bedrijven werden geen seropositieve dieren gevonden tijdens de prevalentiestudie. In dit bedrijf waren wel 4 bieststalen MAP-positief. Een duidelijk teken dat MAP op dit bedrijf geïntroduceerd werd.

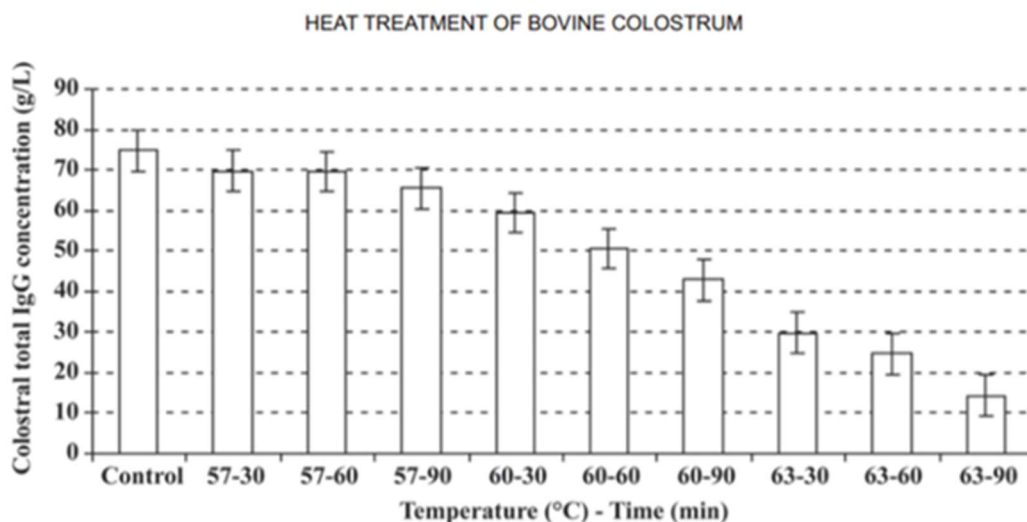
**Dit onderzoek toont duidelijk aan dat MAP wel wordt uitgescheiden in geitenbiest. Deze bevinding stelt het gebruik van bedrijfseigen-/ moedereigen biest op geitenbedrijven weer in vraag.**

## Ontwikkeling van een pasteurisatieprotocol.

In de rundveesector gebeurt het pasteuriseren van biest meer en meer op de bedrijven, vooral om een reductie van allerhande bacteriën erin te bekomen (Cummins et al. 2017). Deze potentiële ziekteverwekkers zijn immers een belasting voor het pasgeboren kalf en reduceren het antistoffengehalte in biest omdat de aanwezige antistoffen binden aan deze bacteriën en daarom opgebruikt worden. Voor de rundveesector bestaan ondertussen voorgeprogrammeerde toestellen die het pasteuriseren van biest praktisch haalbaar maken. De toestellen op de markt voor runderen zijn niet praktisch voor gebruik op geitenbedrijven omwille van het grote biestvolume. Daarom was een doelstelling binnen dit onderzoeksproject om een pasteurisatieprotocol te ontwikkelen dat kan gebruikt worden om geitenbiest in kleine porties te verhitten – waarbij de na te streven warmte en duur behaald worden.

Literatuuronderzoek (voor runderbiest) beschrijft dat het verhitten van biest tot 60°C gedurende 120 min een beperkte invloed heeft op de viscositeit en de IgG concentratie (Mc Martin et al., 2006). Andere studies raden eerder 60 min bij 60°C aan of 30 min bij 60°C (Godden et al., 2006; Elizondo-Salazar et al., 2010; Gelsinger and Heinrichs, 2017). Andere korte termijn voordelen van biestpasteurisatie zijn een betere 'passive transfer' van IgG (Godden et al., 2012; Kryzer et al., 2015). Elizondo-Salazar et al. (2010) vergeleken het effect van de verschillende protocollen op de IgG – concentratie. Dit resultaat is voorgesteld in Figuur 4.





**Figure 1.** Changes in total IgG concentration in bovine colostrum samples after heat treatment at various time and temperature combinations (top of the bars represent SEM).

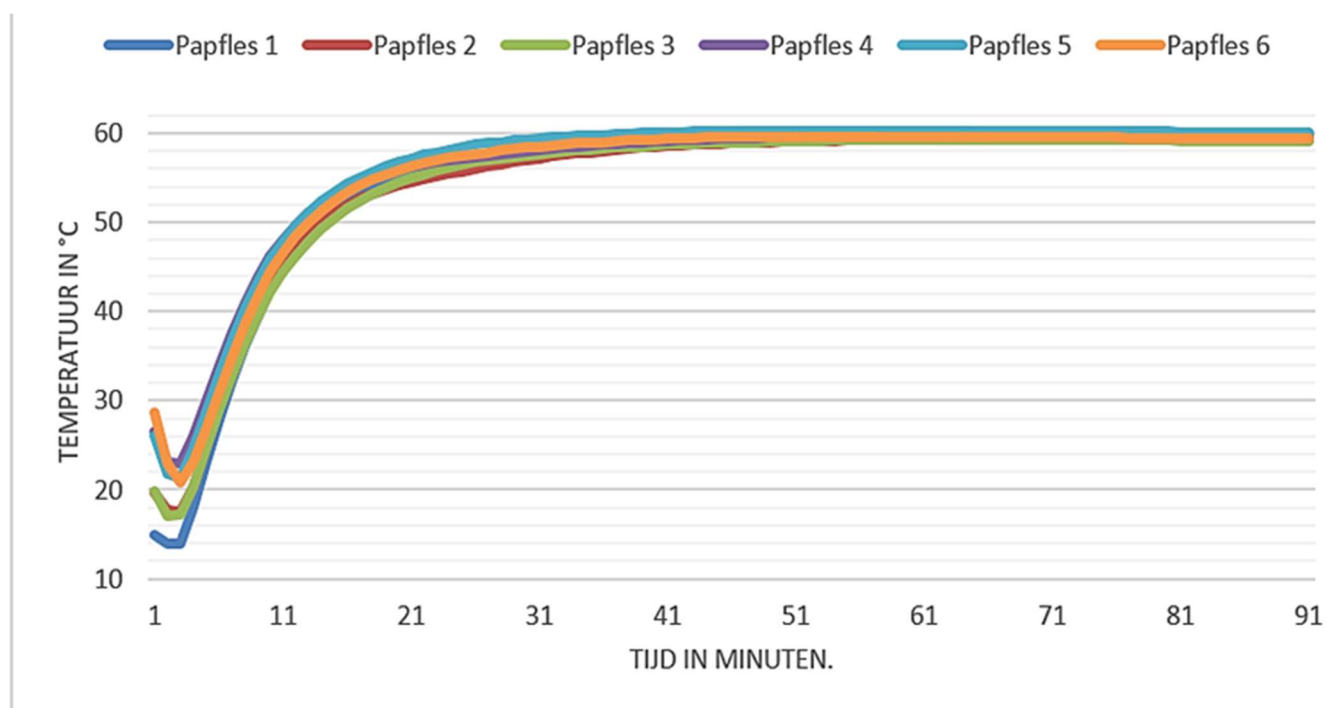
Figuur 4: Wijzigingen in totaal IgG concentratie in bovien colostrum stalen na hittebehandeling met verschillende temperatuur en tijdcombinaties (Elizondo-Salazar et al., 2010).

De literatuur is niet eenduidig over het effect van pasteurisatie en reductie van paraTBC kiemen. Temperaturen boven 60°C blijken het meeste betrouwbare effect te hebben. Hogere temperaturen dan 60°C hebben dan weer een te nadelig effect heeft op de IgG concentratie. Pasteurisatie van biest bij 60°C gedurende 60 min zorgt voor een aanzienlijke reductie zorgt van de paraTBC kiemen - afhankelijk van de studie. Variatie in studieresultaten is misschien te wijten aan de moeilijkheid om deze bacterie te kweken. Isolatie is immers de enige bruikbare methode omdat PCR DNA aantoot en dit blijft aanwezig ook al is de bacterie afgedood door de hittebehandeling.

Het effect van pasteurisatie op CAE is niet duidelijk en moeilijk na te gaan – het lukt immers niet om dit virus op te groeien onder labo-omstandigheden (persoonlijke mededeling Nick De Regge – Sciensano) en het gebruik van PCR is niet aangewezen omdat het virusDNA wel aanwezig blijft na pasteurisatie. De moeilijkheid om SRLV op te groeien op celculturen werd duidelijk na aanvang van dit onderzoeksproject. Omdat er wel financiering voor deze isolatie werd voorzien na biestpasteurisatie, werd het voorziene bedrag besteed aan het typeren van het CAE-DNA geïsoleerd uit de bloedstalen van de prevalentiestudie. De resultaten hiervan werden opgenomen in de publicatie 'Phylogenetic analysis of Belgian SRLV supports cross species virus transmission and identifies new subtype B5 strains – Michiels et al. - 2020' - opgenomen als [Bijlage 5](#) bij dit verslag.

Voor *Corynebacterium pseudotuberculosis* (CL) is pasteurisatie wel een effectief proces om kiemafdoding te verkrijgen. Transmissie van deze bacterie kan gebeuren via biest, maar gebeurt hoofdzakelijk via besmette materialen en direct contact. Deze bacterie vormt geen probleem in de biologische melkgeitensector - met uitzondering van 1 bedrijf.

Binnen dit onderzoeksproject werd een pasteurisatieprotocol ontwikkeld waarmee biest in porties van 120 ml kan verhit worden tot 60°C gedurende 60 min. De verschillende stappen die hiervoor doorlopen werden, staan beschreven in de bachelorproef van Silke Vansantvoort – in [Bijlage 6](#). Het temperatuurverloop in de bieststalen wordt getoond in Figuur 5.



Figuur 5: Temperatuurverloop in biest in het ontwikkelde pasteurisatieprotocol.

Van zodra het protocol op punt stond, werden onbehandelde en gepasteuriseerde bieststalen opgestuurd naar het labo Zoolyx (Aalst) voor IgG bepaling. De reductie van IgG in deze bieststalen bedroeg gemiddeld 15%, mediaan 14% - met een minimum van 1% en maximum van 31%.

Voor het uitgewerkte biestpasteurisatieprotocol werd een handleiding gemaakt. Deze is terug te vinden in [Bijlage 7a – 7b – 7c](#) – handleiding biestpasteurisatie.

Er werd aan de geitenhouders gevraagd om van de verzamelde bieststalen een inschatting te maken van het antistoffengehalte d.m.v. een brix-refractometer. De resultaten hiervan zijn af te lezen uit Tabel 6. Van deze stalen werd een deel opgestuurd naar het labo Zoolyx voor IgG-bepaling om een correcte inschatting van de hoeveelheid antistoffen te hebben. Wat duidelijk wordt, is dat de IgG-concentratie in slechts de helft van de ingezonden bieststalen de norm van 50mg IgG/ml haalt. We zien ook dat de metingen met Brix en IgG vrij goed corresponderen – maar niet bij alle bieststalen wordt een juiste inschatting gemaakt. Op basis van de Brix-metingen behalen maar 8/25 bieststalen de norm van minstens 22,5.

Tabel 6: inschatting van biestkwaliteit aan de hand van brix-metingen in IgG bepalingen.

Bedrijf	Brix-waarde*	IgG (mg/ml)**
8	17,5	40,47
8	20,0	50,42
8	20,2	32,19
10	18,0	28,71
10	20,0	48,78
10	24,0	55,42
10	25,0	72,19
10	23,0	63,30
10	22,0	60,56
10	22,5	72,50
9	19,5	42,4
9	18,5	31,93
11	17,0	-
11	26,0	-
11	25,0	-

11	30,0	-
11	22,0	-
11	15,0	-
11	10,0	-
11	17,0	-
11	16,0	-
4	17,0	-
4	21,0	-
4	26,0	-
4	20,0	-

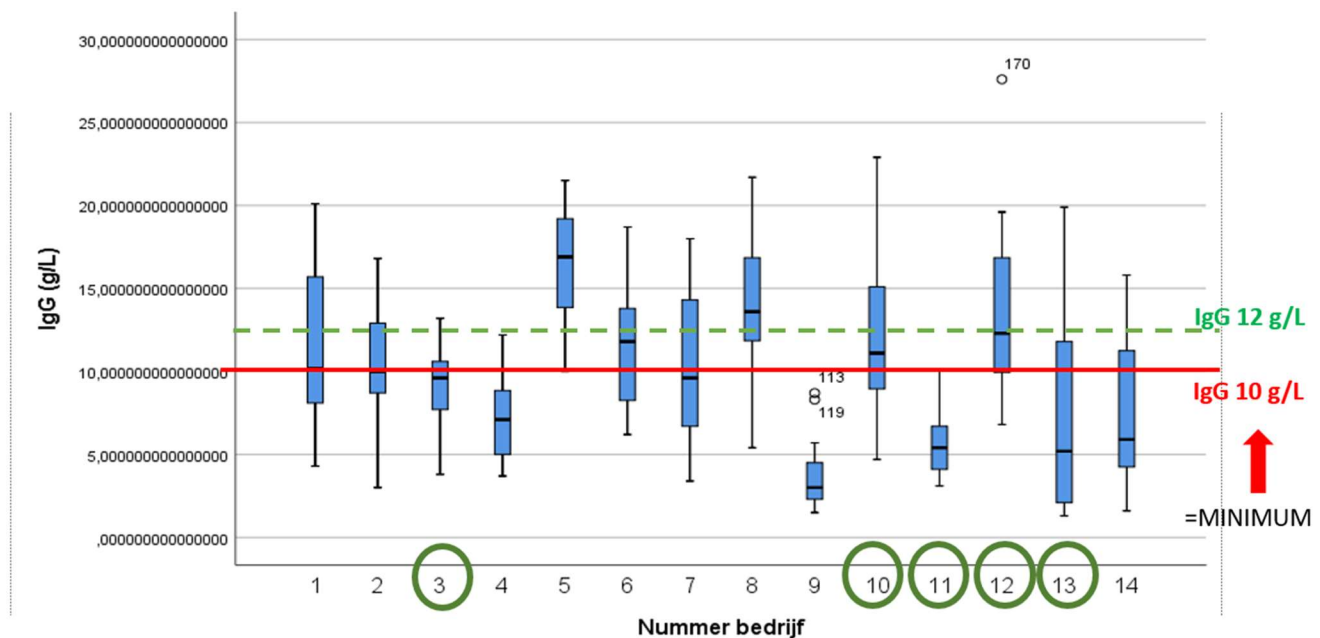
\* Brix-waarde: <22,5 duidt op een te laag gehalte aan antistoffen – werd in rood aangeduid; ≥ duidt op voldoende antistoffen, werd in groen aangeduid.

\*\*IgG-gehalte: <50 mg/ml wordt beschouwd als te laag voor een voldoende passieve transfer; ≥ 50 mg/ml wordt beschouwd als voldoende voor een goede passieve transfer.

Uit dit beperkte onderzoek wordt duidelijk dat de biestkwaliteit op biologische geitenbedrijven beter kan. Dit is belangrijk wanneer er gekozen wordt om bedrijfseigen-/moedereigen biest aan de lammeren te geven.

Dat er duidelijk ruimte voor verbetering is qua biestmanagement op (bio)melkgeitenbedrijven werd ook duidelijk in een onderzoek in samenwerking met faculteit diergeneeskunde (UGent), waar gekeken werd naar het gehalte maternale antistoffen in het bloed van neonatale lammeren. Hierbij werd een gehalte van 10 g/L IgG als minimum en 12 g/L IgG als na te streven beschouwd, zoals aangeduid in Figuur 6. Bedrijven 3 (11), 10 (1), 11 (9), 12 (8) en 13 (5) (nummer tussen haakjes is de bedrijfsnummering die doorheen dit verslag gebruikt werd) waren biologische melkgeitenbedrijven.

De resultaten van dit onderzoek werden voorgesteld tijdens de studiedag van 18 december 2019, die binnen dit onderzoeksproject georganiseerd werd - uitnodiging bijgevoegd als [Bijlage 8](#) bij dit verslag. Daarnaast werden de resultaten mondeling gepresenteerd tijdens het EAAP-congres van 2019, in Gent (abstract bijgevoegd als [Bijlage 9](#)).



Figuur 6: Inzicht in transfer van passieve immuniteit bij melkgeitenlammeren op Vlaamse melkgeitenbedrijven.

Subdoelstellingen	Verwachte resultaten	Prestatie-indicatoren
<b>AD2:</b> inzetbaarheid van kiemvrije bedrijfseigen biest	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Individuele en groepsterugkoppeling BBN geiten</li> <li>- Populariserende artikelen</li> <li>- Wetenschappelijke artikelen</li> <li>- Studie-avond voor brede publiek</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Voorstelling van de resultaten tijdens minstens 1 BBN geiten</li> <li>- Voorstelling van de algemene resultaten aan deelnemers van de Vlaamse Studieclub van Professionele Geitenhouders en/of de Werkgroep Geiten van Boerenbond</li> <li>- Minstens 2 inzendingen voor elektronische nieuwsbrief van CCBT, bioforum of NOBL</li> <li>- Minstens 2 populariserende en 2 wetenschappelijke artikelen</li> <li>- 1 studie-avond voor het brede publiek</li> </ul>

## Terugkoppeling BBN melkgeiten

- **Dinsdag 3 april 2018** – voorstelling projectdoelstellingen – uitnodiging aan melkgeitenhouders voor deelname
- **Dinsdag 18 december 2018** – biologisch geitenbedrijf ‘Klavertroef’ - terugkoppeling resultaten prevalentiestudie en risicofactoren + terugkoppeling resultaten passieve transfer studie – zie ppt als [Bijlage 3](#) bij dit verslag
- **Dinsdag 11 juni 2019** - biologische geiten- en akkerbouwbedrijf Maatschap Steendijk ‘de Koornschoof’ - mededeling stand van zaken onderzoek
- **Dinsdag 3 december 2019** - Zaal De Kouter, Ilvo-Plant, Burg. Van Gansberghelaan 109, Merelbeke - mededeling stand van zaken onderzoek – resultaten Brix-metingen in biest
- **12 december 2019** - mailcommunicatie rond paraTBC in biest

## Studiedag – met brede uitnodiging naar Vlaamse studieclub – Werkgroep geiten boerenbond – BBN-melkgeiten – stuurgroep leden

In bijlage bij dit verslag:

- [Bijlage 8](#): uitnodiging studiedag
- [Bijlage 10](#): presentatie Karianne Lievaart-Peterson
- [Bijlage 11](#): presentatie Marie Willockx
- [Bijlage 12](#): presentatie Jo Vicca
- [Bijlage 13](#): presentatie Steven Verberckmoes

## Publicaties:

*Populariserend:*

- BIOpraktijk augustus 2108: Naar kiemvrije bedrijfseigen biest als noodzakelijke hefboom voor een gezonde opfok - <https://www.ccbt.be/?q=node/3482>
- Nobl website + Nobl-publicatie ‘de biologische landbouw in Vlaanderen - onderzoek 2017-2018 (p124-125): Naar kiemvrije bedrijfseigen biest als noodzakelijke hefboom voor een gezonde opfok - <https://www.nobl.be/nl/node/1335>

- Ingezonden om op te nemen in Nobl-publicatie 'de biologische landbouw in Vlaanderen – onderzoek 2019-2020:
  - [Bijlage 14](#): (On-)zin van testen op melk in controleprogramma's voor CAE-vrije geitenbedrijven
  - [Bijlage 15](#): Wordt MAP, veroorzaker van paraTBC bij runderen en geiten ook uitgescheiden via geitenbiest?
  - [Bijlage 16](#): Voorkomen van CAE, CL en paraTBC op biomelkgeitenbedrijven en redenen voor hogere paraTBC infectiedruk

#### *Wetenschappelijk:*

- [Bijlage 1](#): Tuerlinckx et al. 2018. Paratuberculosis in dairy and pygmy goats: an underestimated problem? Vlaams diergeneeskundig tijdschrift 87, 127-133
- [Bijlage 9](#): Willockx et al. 2019. Exploring the success or failure of passive antibody transfer in goat kids in Flanders. Book of Abstracts of the 70th annual meeting of the European Federation of Animal Science. Ghent, Belgium 26-30 August 2019, p 576 – mondelinge presentatie
- [Bijlage 4](#): Adjadj et al. 2020. (Non-)sense of milk testing in SRLV control programs in goats. Comparative analysis of antibody detection and molecular diagnosis in blood and milk. Viruses 12, 3; doi:10.3390/v12010003
- [Bijlage 5](#): Michiels et al. 2020. Phylogenetic analysis of Belgian SRLV supports cross species virus transmission and identifies new sybtype B5 strains. Pathogens 9, 183; doi:10.3390/pathogens9030183
- Er wordt nog een wetenschappelijke publicatie geschreven over de resultaten van:
  - Het prevalentieonderzoek en de risicofactoren
  - De MAP-insolatie uit geitenbiest

## STUURGROEPOVERLEG

Volgende personen werden uitgenodigd om deel te nemen aan de stuurgroepvergadering:

- Laurence Hubrecht: Departement Landbouw&Visserij
- Jan Eskens: Departement Landbouw&Visserij
- Lieve Decock - NOBL
- Carmen Landuyt - CCBT
- Johan Devreese - BBN
- An Jamart - Bioforum
- Nick De Regge - Sciensano
- Bart Pardon – Faculteit Diergeneeskunde – inwendige ziekten herkauwers - UGent
- Karianne Lievaart-Peterson – GD-Nederland
- Sander Hoogstijns - Boerenbond
- Ignace Deroo - Boerenbond
- Eva Van Mael - DGZ
- Luk Sobry - Inagro

De stuurgroep kwam samen op 17 oktober 2018. De eerste resultaten van het prevalentieonderzoek werden voorgesteld. Het vervolg van het project werd besproken. De ppt-presentatie is terug te vinden in [Bijlage 17](#) bij dit verslag.

De stuurgroep kwam niet in z'n geheel meer samen tijdens het verdere verloop van het project. Er was wel een intensieve samenwerking met de meeste stuurgroepleden tijdens het projectverloop – (individuele) stuurgroepleden werden geraadpleegd indien overleg nodig was.

## Besluit en toekomstvisie

Dit onderzoeksproject had tot doelstelling om het voorkomen van de dierziekten – Capriene Artritis en Encefalitis (CAE), paratuberculose (paraTBC) en cazeuse lymfadenitis (CL) - in de Vlaamse biologische geitenhouderij in beeld te brengen. Deze dierziekten zijn de belangrijkste redenen waarom geitenhouders twijfelen over het gebruik van bedrijfseigen geitenbiest. Nochtans is (verse) geitenbiest de beste garantie voor een goede opstart van het jonge geitenlam.

CL is een dierziekte die goed onder controle blijkt in de Vlaamse biologische melkgeitensector. Enkel op 1 bedrijf werden antistoffen tegenover de veroorzakende bacterie teruggevonden. Deze dierziekte zou daarom geen hinder mogen betekenen voor het gebruik van geitenbiest. Blijvende aandacht om insleep te voorkomen is wel nodig omdat CL nog steeds aanwezig is in onze geitenpopulatie.

Het voorkomen van CAE op de bedrijven is erg verschillend – gaande van 0% tot 100% seropositieve dieren. Het gebruik van geitenbiest kan overwogen worden op negatieve bedrijven. Het is absoluut af te raden om biest van seropositieve dieren aan de lammeren te geven aangezien dit de prevalentie op termijn zal verhogen. Daarom is het gebruik van geitenbiest sterk af te raden op bedrijven met hoge CAE-prevalenties. Op bedrijven met gematigde prevalenties is het gebruik van geitenbiest te overwegen mits zorgvuldige selectie van seronegatieve dieren – dit vraagt een strikt management. Voor CAE is het belangrijk om te streven naar CAE-vrij certificering. De bestaande programma's slagen hierin. Het advies is daarom voornamelijk om aan te sluiten bij deze programma's.

Voor paraTBC is het advies veel minder duidelijk. Uit dit onderzoek bleek dat uit 11 van 95 bieststalen (=11,6%) MAP kon geïsoleerd worden. Uitscheiding van deze bacterie in geitenbiest is dus niet uitzonderlijk, zelfs bij gevaccineerde dieren. Ook jonge dieren (1ste x gelammerd) blijken deze bacterie uit te kunnen scheiden in biest. Selectie van deze leeftijdsgroep als bron voor bedrijfsbiest biedt daarom onvoldoende zekerheid voor paraTBC-vrije biest. Daarbij komt paraTBC voor op alle betrokken biologische geitenbedrijven. Biestpasteurisatie is een optie, maar de literatuur is momenteel te weinig éénduidig over het al dan niet volledig afdoden van deze bacterie wanneer temperaturen gebruikt worden die het IgG-gehalte voldoende beschermen. Biestpasteurisatie voor de geitensector blijft erg arbeidsbelastend, zeker omdat het lammerseizoen in deze sector al bijzonder intensief is. Extra arbeid die daarenboven heel veel hygiënische alertheid vraagt, is in deze periode niet gewenst. Daarbij blijkt het IgG-gehalte in geitenbiest vaak ondermaats. Extra IgG-verlies door pasteurisatie brengt de overdracht van voldoende maternale antistoffen in gevaar. Omwille van al deze argumenten is het gebruik van kunstbiest nog steeds het meest aangewezen. Met daarnaast als extra heel belangrijke onderliggende reden het zoönotisch aspect van MAP – er is een link met de ziekte van Crohn en andere ziekten bij mensen (Feller et al, 2007; Waddell et al., 2015; Sechi and Dow, 2015).

Een gebrek aan snelle, betaalbare en betrouwbare diagnostiek bij gevaccineerde dieren speelt heel erg voor deze MAP-bacterie. Dergelijke diagnostiek is noodzakelijk willen we de paraTBC-problematiek degelijk kunnen aanpakken op melkgeitenbedrijven. Een innovatieve benadering bestaat uit de inzet van zoekdieren. Elke stof met een uniek geurprofiel komt in principe in aanmerking om een zoekdier op te trainen. Ratten hebben een hoge trainbaarheid, volharding, efficiënte inzetbaarheid en lage onderhoudskosten (Mgode et al., 2015). Door hun hogere biologische veiligheid bij contact met de MAP-ziektekiem (Koets et al., 2000) in vergelijking met zoekhonden (Glaneman et al., 2008), zijn ze de aangewezen zoekdieren. Er is reeds voldoende bewijs dat zoekdieren verschillende ziekten kunnen ruiken. Gambiahamsterratten (*Cricetomys gambianus*) kunnen worden getraind om tuberculose (*Mycobacterium tuberculosis*-genotypes) in sputummonsters van mensen op te sporen (Weetjens et al., 2009; Mgode et al., 2017). Eén rat kan honderden monsters per dag testen terwijl dit één laborant meerdere dagen zou kosten. Er werd een projectvoorstel ingediend bij FOD volksgezondheid, maar dit voorstel werd niet weerhouden voor financiering. We zoeken verder voor financiering voor dit onderzoek. Ondertussen is een bachelorstudente agro- en biotechnologie van Odisee gestart met de training van ratten voor detectie van MAP in de beschikbare bieststalen.

## Bronnen

- Bastida, F. and Juste, R.A. 2011. Paratuberculosis control: a review with a focus on vaccination. *Journal of Immune Based Therapies and Vaccines* 9, 8.
- Blacklaws, B. 2012. Small ruminant lentiviruses: Immunopathogenesis of visna-maedi and caprine arthritis and encephalitis virus. *Comp. Immunol. Microbiol. Infectious Diseases* 35, 259-269.
- Cummins, C., Berry, T.D., Murphy, J.P., Lorenz, I., Kennedy, E. 2017. The effect of colostrum storage conditions on dairy heifer calf serum immunoglobulin G concentration and preweaning health and growth rate. *Journal of Dairy Science* 100, 525-535.
- De Silva, K., Plain, K.M., Begg, D.J., Purdie, A.C., Whittington, R.J. 2015. CD4+ T-cells,  $\gamma\delta$  T-cells and B-cells are associated with lack of vaccine protection in *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection. *Vaccine* 33(1), 149-155.
- Elizondo-Salazar, J.A., Jayarao, B.M., Heinrichs, A.J. 2010. Effect of heat treatment of bovine colostrum on bacterial counts, viscosity and immunoglobulin G concentration. *Journal of Dairy Science* 93, 961-967.
- Feller, M., Huwiler, K., Stephan R., Altpeter, E., Shang, A., Furrer, H., Pfyffer, G.E., Jemmi, T., Baumgartner, A., Egger, M. 2007. *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* and Crohn's disease: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet – Infectious Diseases* 7(9), 607-613.
- Galitsopoulou, A., Michealidou, A-M., Menexes, G., Alichanidis, E. 2015. Polyamine profile in ovine and caprine colostrum and milk. *Food Chemistry* 173, 80-85.
- Gelsing, S.L. and Heinrichs, A.J. 2017. Comparison of immune responses in calves fed heat-treated or unheated colostrum. *Journal of Dairy Science* 100, 4090-4101.
- Glanemann, B., Schönenbrücher, H., Bridger, N., Abdulmawjood A., Neiger, R., Bülte, M. 2008. Detection of *Mycobacterium avium* ss. *paratuberculosis* DNA by PCR in intestinal biopsies of dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 22, 1090-1094.
- Godden, S., McMartin, S., Feirtag, J., Stabel, J., Bey, R., Goyal, S., Metzger, L., Fetrow J., Wells S., Chester-Jones, H. 2006. Heat-treatment of bovine colostrum. II: Effects of heating duration on pathogen viability and Immunoglobulin G. *Journal of Dairy Science* 89, 3476-3483.
- Godden, S.M., Smolenski, D.J., Donahue M., Oakes, J.M., Bey, R. Wells, S., Sreevatsan, S. Stabel, J., Fetrow, J. 2012. Heat-treated colostrum and reduced morbidity in preweaned dairy calves: Results of a randomized trial and examination of mechanisms of effectiveness. *Journal of Dairy Science* 95, 4029-4040.
- Godden, S.M., Wells, S., Donahue, M., Stabel, J., Oakes, M., Sreevatsan, S., Fetrow, J. 2015. Effect of feeding heat-treated colostrum on risk for infection with *Mycobacterium avium* ssp. *Paratuberculosis*, milk production, and longevity in Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science* 98, 5630-5641.
- Kaba, J., Czopowicz, M., Ganter, M., Nowicki, M., Witkowski, L., Nowicka, D., Szalus-Jordanow, O. 2013. Risk factors associated with seropositivity to small ruminant lentiviruses in goat herds. *Research in Veterinary Science* 94, 225-227.
- Koets, A., Ravesloot, L., Ruuls, R., Dinkla, A., Eisenberg, S., Lievaart-Peterson, K. 2019. Dairy goats in relation tot paratuberculosis control strategies. *Veterinary Sciences* 6(3), 62; doi:10.3390/vetsci6030062.
- Koets, A.P., Rutten, V.P.M.G., Bakker, D., van der Hage, M.H., van Eden, W. 2000. Lewis rats are not susceptible to oral infection with *Mycobacterium avium* ss. *paratuberculosis*. *Veterinary Microbiology* 77, 487-495.
- Kryzer, A.A., Godden, S.M., Schell, R. 2015. Heat-treated (in single aliquot of batch) colostrum outperforms non-heat-treated colostrum in terms of quality and transfer of immunoglobulin G in neonatal Jersey calves. *Journal of Dairy Science* 98, 1870-1877.
- Lievaart-Peterson, K., Luttikholt, S., Gonggrijp, M., Ruuls, R., Ravesloot, L., Koets, A.P. 2019. *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* DNA and antibodies in dairy goat colostrum and milk. *Veterinary Sciences* 6, 96; doi:10.3390/vetsci6040096.
- Marziali, S., Guerra, E., Cerdán-García, C., Segura-Carretero, A., Caboni, M.F., Verardo, V. 2018. Effect of early lactation stage on goat colostrum: Assessment of lipid and oligosaccharide compounds. *International Dairy Journal* 77, 65-72.
- McMartin, S., Godden, S., Metzger, L., Feirtag, J., Bey, R., Stabel, J., Goyal, S., Fetrow, J., Wells, S., Chester-Jones, H. 2006. Heat treatment of bovine colostrum. I: Effects of temperature on viscosity and immunoglobulin G level. *Journal of Dairy Science* 89, 2110-2118.

- Mgode, G., Cohen-Bacrie S., Bedotto M., Weetjens B.J., Cox C., Jubitana M., Kuipers, Machang’u R.S., Kazwala, R., Mfinanga, S., Kaufmann, S.H.E., Drancourt, M. 2015. Mycobacterium genotypes in pulmonary tuberculosis infections and their detection by trained African giant pouched rats. *Current Microbiology* 70, 212.
- Mgode, G.F., Cox, C.L., Mwimanzi, S., Mulder, C. 2018. Pediatric tuberculosis detection using trained African giant pouched rats. *Pediatric Research* 84(1), 99-103.
- Michiels, R., Van Mael, E., Quinet, C., Welby, S., Cay A.B., De Regge, N. 2018. Seroprevalence and risk factors related to small ruminant lentivirus infections in Belgian sheep and goats. *Preventive Veterinary Medicine* 151, 13-20.
- Moreno-Indias, I., Sánchez-Macias, D., Castro, N., Morales-delaNuez, A., Hernández-Castellano, L.E., Capote, J., Argüello, A. 2012. Chemical composition and immune status of dairy goat colostrum fractions during the first 10h after partum. *Small Ruminant Research* 103, 220-224.
- Nowicka, D., Czopowicz, M., Szalus-Jordanow, O., Witkowski, L., Bagnicka, E., Kaba, J. 2015. Seropositive bucks and within-herd prevalence of small ruminant lentivirus infection. *Experimental immunology* 40(3), 283-286.
- Perez, M., Biescas, E., de Andres, X., Leginagoikoa, L., Salazar, E., Berriatua, E., Reina, R., Bolea, R., de Andres, D., Juste, R.A., Cancer, J., Gracia, J., Amorena, B., Badiola, J.J., Lujan, L. 2010. Visna/maedi virus serology in sheep: survey, risk factors and implementation of a successful control programme in Aragon (Spain). *Veterinary Journal* 186, 221-225.
- Peterhans, E., Greenland, T., Badiola, J., Harkiss, G., Bertoni, G., Amorena, B., Eliazewicz, M., Juste, R.A., Krassnig, R., Lafont, J.P., Lenihan, P., Petursson, G., Pritchard, G., Thorley, J., Vitu, C., Mornex, J.F., Pepin, M. 2004. Routes of transmission and consequences of small ruminant lentiviruses (SRLVs) infection and eradication schemes. *Veterinary Research* 35, 257-274.
- Rowe, J D., East, N. E. 1997. Risk factors for transmission and methods for control of caprine arthritis-encephalitis virus infection. *Vet. Clinics North America: Food Animal Practice* 13(1),35-53.
- Schaller, P., Vogt, H.R., Strasser, M., Nettleton, P.F., Peterhans, E., Zanoni, R. 2000. Seroprevalence of maedi-visna and border disease in Switzerland. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 142, 145-153.
- Sechi, L.A. and Dow, C.D. 2015. *Mycobacterium avium* ss. *paratuberculosis* zoonosis – The hundred year war – Beyond Crohn’s disease. *Frontiers in immunology* 5, 96: doi:10.3389/fimmu.2015.00096.
- Waddell L.A., Rajic, A., Stärk, K.D.C., McEwen, S.A. 2015. The zoonotic potential of *Mycobacterium avium* spp. Paratuberculosis: a systematic review and meta-analyses of the evidence. *Epidemiol. Inf.* 143(15), 3135-3157.
- Weetjens, B.J., Mgode, G.F., Machang’u R.S., Kazwala, R., Mfinanga, G., Lwilla, F., Cox, C. Jubitana, M., Kanyagha, H., Mtandu, R., Kahwa, A., Mwessongo, J., Makingi, G., Mfaume, S., Van Steenberge, J., Beyene, N.W., Billet, M., Verhagen, R. 2009. African pouched rats for the detection of pulmonary tuberculosis in sputum samples. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 13(6),737-743.