

Veroorzaker van para-tbc komt vooral voor in de fracties room en wrongel van melk en zuivelproducten

# Gefractioneerde biest tegen para-tbc

De veroorzaker van para-tbc is gecorreleerd aan bepaalde fracties in melk. Dat blijkt uit doctoraatsonderzoek van Leen Van Brandt. De weifractie van melk en biestmelk blijkt minder, die van wrongel en room meer besmet. Die vaststelling biedt kansen voor het doorbreken van overdracht van koe op kalf via biestmelk.

tekst **Leen Van Brandt**

**M**ycobacterium avium subspecies paratuberculosis (MAP) is een pathogene bacterie die paratuberculose (para-tbc), een ongeneeslijke darmontsteking, bij runderen veroorzaakt. Door zijn ongeneeslijke karakter brengt de ziekte grote productie verliezen en dus economische schade teweeg.

De potentiële betrokkenheid van de MAP-bacterie bij de ziekte van Crohn bij de mens betekent een mogelijk risico voor de volksgezondheid. De relatie tussen beide ziekten is echter nog niet wetenschappelijk aangetoond.

Een onderzoeksproject aan het Instituut voor Landbouw- en Visserijonderzoek, kortweg ILVO, in het Oost-Vlaamse Merelbeke focuste op 'detectietechnieken en strategieën voor de reductie van MAP in melk en zuivelproducten'. De studie was gericht op nieuwe en verbeterde opsporings- en meettechnieken voor de aanwezigheid van de MAP-bacterie in diverse zuivelproducten. Het onderzoek opent ook een aantal perspectieven voor het doorbreken van de overdracht van para-tbc door het scheiden van bepaalde fracties uit biestmelk.

## MAP gemakkelijker opsporen

De MAP-bacterie is volgens traditionele onderzoeksmethoden moeilijk op te sporen in melk en afgeleide zuivelproducten.

Er zijn verschillende redenen voor de moeilijke detectie. De eerste is de lage concentratie aan MAP-cellen in gecontamineerde, verontreinigde, melk. Een tweede oorzaak is de zeer trage groei van deze bacterie. Door zijn trage groei ontstaat een verhoogd risico dat de MAP-

bacterie door andere bacteriële groei, onder andere van melkzuurbacteriën, wordt overwoekerd. Dat laatste bemoeilijkt weer de detectie van de MAP-bacterie.

Via een langdurende cultuur van MAP-cellen uit zuivelproducten kan de bacterie uit zuivel geïsoleerd worden. In deze studie is gezocht naar methoden om die detectie van MAP in melkproducten te verbeteren. Onder meer de toevoeging van bepaalde stoffen is bestudeerd.

De stof nisine, een antimicrobieel bestanddeel, bleek onder bepaalde concentraties effectief om de groei van de zuivelflora, zoals melkzuurbacteriën, op de isolatieplaten te onderdrukken. De onderdrukking gebeurde zonder dat de groei van de MAP-bacteriën werd gehinderd.

De bruikbaarheid van deze methode om MAP-bacteriën in verwerkte melk en zuivelproducten op te sporen is in de loop van het onderzoek getest op verschillende kazen, yoghurt en gepasteuriseerde melk. Enkele proeven hebben aangetoond dat de detectie van de MAP-bacterie in zuivelproducten op deze manier mogelijk is. De veroorzaker van para-tbc kan door toevoeging van nisine gemakkelijker worden aangetoond in het eindproduct.

## Snel pasteuriseren onvoldoende

Een tweede luik in het onderzoek betrof het gedrag en de controle van MAP-bacteriën in melk en zuivelproducten. Daarbij werd het effect van zowel de verwerking van de melk als de intrinsieke eigenschappen van zuivelproducten onderzocht.



Duidelijk minder MAP-bacteriën aanwezig in de weifractie van biestmelk

Met name de inactivatie van de MAP-bacteriën tijdens de verhitting van met MAP geïnoculeerde (ingeënte) melk werd in het onderzoeksproject nagegaan. De analyse maakte het mogelijk om te evalueren in hoeverre de huidige wettelijke pasteurisatievoorwaarden voldoen om MAP-bacteriën in melk te doden.

Pasteurisatie op 62,7 graden Celsius gedurende 30 minuten (lage temperatuur lange tijd, LTLT-pasteurisatie) of 71,7 graden Celsius gedurende 15 seconden (hoge temperatuur korte tijd, HTST-pasteurisatie) werden in het onderzoek vergeleken.

De analyse suggereerde dat in elk geval deze laatste techniek – kortstondige pasteurisatie op hogere temperatuur – geen garantie biedt voor de inactivatie van MAP-bacteriën in melk. In twee op zes gevallen was HTST-pasteurisatie onvoldoende voor het doden van alle bacteriën, terwijl LTLT-pasteurisatie als effectief kan worden beschouwd. Deze vaststelling moet echter bevestigd worden aan de hand van aanvullend onderzoek.

## Minder in de fractie wei

In een vervolgartijdstudie is in het onderzoek bekeken in welke mate de veroorzaker van para-tbc geassocieerd is met bepaalde fracties in de melk. Behalve melk is ook biestmelk in deze fase van het onderzoek meegenomen. Biestmelk staat bekend als een belangrijke vector voor het overbrengen van een para-tbc-besmetting tussen koe en kalf.

Telkens is uitgegaan van een neutraal melk- of biestmelkstaal. Aan dat monster werden de MAP-bacteriën onder labo-omstandigheden toegevoegd. Het fractioneren van de melk en biestmelk gebeurde door centrifugeren van de melk om zo de verschillende fracties room, wei en wrongel van elkaar te scheiden.

Tabel 1 geeft de gewichtspercentages van MAP-bacteriën aan in de verschillende melkfracties. Zowel voor de melk als voor de biestmelk bleek tachtig tot negentig procent van de MAP-cellen in de wrongel terecht te komen. Tien tot twintig procent van de cellen werd in de room teruggevonden. In de weifractie la-



Dr. ir. L. Van Brandt, doctoraatsonderzoeker aan het ILVO



fractie	type MAP	room (%)	wei (%)	wrongel (%)
melk	S-23	11,8	0,005	88,1
	ATCC 19698	19,8	0,003	80,2
biest	S-23	16,0	0,4	83,8
	ATCC 19698	19,7	0,1	80,2

Tabel 1 – Relatieve verdeling in procenten van het gewicht van twee typen MAP-bacteriën gemeten in gewone melk en in biestmelk

gen de percentages aanzienlijk lager. Tabel 1 toont aan dat veel kleinere percentages van de bacterie in de wei werden vastgesteld, variërende van 0,003 tot 0,4 procent.

### Het fractioneren van biestmelk

Deze resultaten hebben consequenties voor de humane blootstelling. Zo kan op deze basis worden geconcludeerd dat de aanwezigheid van MAP-bacteriën bij het verwerken van gecontamineerde melk zich meer in bepaalde zuivelproducten concentreert. Zo kan MAP vooral voorkomen in zuivelproducten als kaas, boter en room, bestemd voor menselijke consumptie.

Bij de overdracht van para-tbc van koe naar kalf geldt de biestmelk als een belangrijke infectieroute. De vaststelling dat het voorkomen van MAP-bacteriën aan bepaalde fracties in de melk gelinkt is, heeft dus ook een voordeel. Het fractioneren van biestmelk maakt een ruwe scheiding mogelijk van wei en de MAP-bevattende fracties wrongel en room. De wei is het deel van de melk dat ook de immunoglobulinen bevat. Die laatste zijn de afweerstoffen, noodzakelijk voor het pasgeboren en bijgevolg nog onbeschermde kalf.

Een mogelijkheid voor de melkveehouderij in de praktijk kan zijn om de wei en dus de immunoglobulinen uit gecontamineerde biestmelk te onttrekken door centrifugeren. De andere vet- en eiwitrijke fracties in de biest kunnen aan de weifractie kunstmatig worden toegevoegd.

Scheiding van de verschillende fracties in biestmelk zou eraan kunnen bijdragen de overdracht van para-tbc tussen koe en kalf te doorbreken. Dit inzicht kan helpen bij de ontwikkeling van MAP-vrij colostrum dat de veehouder zelf op de hoeve kan produceren. Zodoende kan het bedrijfsspecifieke karakter van de afweerstoffen in de biestmelk toch behouden blijven. Dit luik van de studie roept in elk geval op tot verder onderzoek.

### Effect van probiotica?

Praktische proeven op yoghurt en commerciële gefermenteerde melkproduc-

ten met probiotische culturen gaven inzicht in de kans op overleving van MAP in de zuivelpraktijk. MAP-bacteriën aangebracht in melk waar vervolgens yoghurt uit werd bereid, bleken niet of nauwelijks te worden gedood in een periode van zes weken bewaring. Dit duidt op een mogelijk risico voor humane blootstelling, indien de bacteriën de pasteurisatie overleven of indien een nabesmetting optreedt.

Daartegenover bestonden indicaties dat uit de handel verkregen gefermenteerde melkproducten met probiotische culturen wel degelijk effect hadden op de overleving van MAP-cellen die in de producten aangebracht waren.

Het effect van probiotische culturen op MAP-bacteriën zou toegepast kunnen worden in de praktijk. Probiotische culturen kunnen helpen om de darmflora te ondersteunen en MAP-cellen in de darmen te onderdrukken. Dat laatste zou zowel bij mensen als bij dieren kunnen, maar vereist daarvoor nog eerst verdere verdieping. |

## Conclusies

- Nisine is een antimicrobieel bestanddeel dat helpt bij de detectie van de MAP-bacterie, die para-tbc veroorzaakt.
- Pasteurisatie biedt niet in alle gevallen de garantie dat MAP-cellen in melk inactief worden.
- MAP-cellen komen vooral voor in bepaalde fracties van melk, zoals room en wrongel. Daardoor komen ze wellicht ook vaker voor in bepaalde typen zuivelproducten.
- Fractioneren van biest biedt mogelijkheden om overdracht van MAP van koe op kalf tegen te gaan.
- In gefermenteerde melkproducten met probiotische culturen is een effect zichtbaar op de overleving van MAP-cellen.