



Algemene gegevens	
PPS-nummer	AF-15293
Titel	One Health for Meat Products
Roadmap/Koepel	Food & Nutrition - High Quality Food production
Uitvoerende kennisinstelling(en)	TNO (MSB en FI) WBVR en RIVM.
Projectleider onderzoek (naam en emailadres)	Theo Verkleij (theo.verkleij@wur.nl), overgegaan naar Jasper Kieboom (jasper.kieboom@tno.nl)
Penvoerder PPS (namens private partij)	Karin Koppen
Contactpersoon overheid	
Werkelijke startdatum	1-1-2016
Werkelijke einddatum	31-12-2017
Korte omschrijving inhoud (bij voorkeur 4 regels, max. half A4)	De PPS One Health for Meat Products is een samenwerking tussen TNO, WBVR, RIVM en 2 partijen uit de vleesverwerkende industrie met als doel om een alternatieve, snelle detectiemethode te ontwikkelen voor het aantonen van levende Toxoplasma parasieten in vlees en vleesproducten. Deze methode wordt in het project naast de gouden standaard, muizenbioassay, ingezet om voor een aantal geselecteerde procesmaatregelen voor de bereiding van vleesproducten te bepalen of deze maatregelen afdoende zijn om het gevaar van Toxoplasma in rauw geconsumeerde vleesproducten af te wenden.

Link naar samenvatting Kennis Online: <https://www.wur.nl/en/show/AF-15293-One-Health-for-meat-products-1.htm>

Goedkeuring penvoerder / consortium	
De eindrapportage dient te worden besproken met de penvoerder/het consortium. De TKI's nemen graag kennis van evt. opmerkingen over de rapportage.	
De penvoerder heeft namens het consortium de eindrapportage	<input checked="" type="checkbox"/> V goedgekeurd <input type="checkbox"/> niet goedgekeurd
Evt. opmerkingen over de eindrapportage:	

Mutaties ten opzicht van het oorspronkelijke projectplan en follow-up	
Zijn er wijzigingen geweest in het consortium / de projectpartners? Zo ja, benoem deze.	Nee.
Zijn er inhoudelijke wijzigingen geweest in het project?	Er zijn geen inhoudelijke wijzigingen geweest in het project.
Is er sprake van knelpunten bij de uitvoering van het project?	Het bleek lastiger dan voorzien om voldoende geïnfecteerd vlees te verkrijgen door schapen uit het slachthuis te selecteren op basis van serologie en MC-PCR. Dit is binnen het project opgelost door materiaal van experimenteel geïnfecteerde muizen toe te voegen (via WIV-ISP in Brussel). In de toekomst heeft het de voorkeur voor deze experimenten gebruik te maken van een experimenteel geïnfecteerd schaap of varken. Gedurende de uitvoering en het testen van de Real Time Viability test bleek de huidige fluorescentie microscoop onvoldoende het spectrum

	weer te kunnen geven; de reflectie van het vleessample gaf te veel verstoring. Er is een nieuwe fluorescentiemicroscopie aangeschaft die te laat geleverd is om nog succesvol gebruikt te kunnen worden in het project.
Is er sprake van afwijkingen van het ingezette budget/de begroting?	Nee. Hoewel additioneel budget door RIVM in 2017 is ingezet door vertraging van de werkzaamheden in 2016. (RIVM heeft in 2017 eigen budget van 50.000 € extra ingezet, dit was niet voorzien in oorspronkelijke begroting)
Is er sprake van een octrooi-aanvraag (evt. first filing) vanuit deze PPS?	Nee
Is er sprake van spin-offs (contract-onderzoek dat voortkomt uit dit project, aanvullende subsidies die zijn verkregen of spin-off bedrijvigheid)	Ja, hierover wordt op dit moment gesproken met de sponsor en andere bedrijven.

Resultaten en deliverables	
1. Welke deliverables zijn opgeleverd? (geef een korte beschrijving per deliverable uit het projectplan)	<p>Fase 1: Ontwikkeling van drie methodes voor detectie van levende <i>T. gondii</i> in vleesdigest –De PMA methode bleek ontoereikend te zijn, de celkweek methode en de RTV methode zijn verder ontwikkeld maar nog niet gereed om ingezet te worden. Gedeeltelijk opgeleverd. Evaluatiemoment – Opgeleverd</p> <p>Fase 2: Geoptimaliseerd protocol voor isolatie weefselcysten uit vlees – Opgeleverd</p> <p>Fase 3: Geoptimaliseerde methodes voor detectie van levende <i>T. gondii</i> bradyzoieten in vleesdigest – Celkweek is opgeleverd, de RTV methode gedeeltelijk opgeleverd Vergelijking met standaard, de muizen bioassay – Gedeeltelijk opgeleverd (vergelijk met de celkweek uitgevoerd, de RTV methode niet. Evaluatiemoment voor beslissing methode in fase 4 – Opgeleverd</p> <p>Fase 4: Procesmaatregelen die <i>T. gondii</i> kunnen inactiveren –Opgeleverd Additieven die <i>T. gondii</i> kunnen inactiveren – Opgeleverd Effect van verschillende combinaties op daadwerkelijke inactivatie – Opgeleverd</p> <p>Geen van de drie in vitro methoden (RTV, PMA en celkweek) voor het aantonen van levende Toxoplasma parasieten in vlees en vleesproducten zijn op dit moment voldoende geschikt bevonden om te kunnen dienen als alternatief voor de muizen bioassay. Voor de celkweek en de RTV methode liggen er mogelijkheden voor verbetering.</p>
2. Indien bepaalde deliverables niet gehaald zijn, wat was daarvoor de reden?	<p>Fase 3: Voor de correcte uitvoering van de RTV methode was de aanschaf van nieuwe apparatuur (op eigen kosten) noodzakelijk. De levering hiervan duurde langer dan verwacht waardoor een vertraging is ontstaan. De belangrijkste doelstellingen van de technologie zijn wel behaald, maar de bevestiging van de bruikbaarheid ten opzichte van de muizenbioassay kon helaas niet plaats vinden. De celkweek is vergeleken met de muizenbioassay, maar bleek minder gevoelig bij aanwezigheid van vleesdigest, hier is nog een verdere optimalisatie noodzakelijk. Het effect van de procesmaatregelen kon niet beoordeeld worden met behulp van de celkweekmethode door schimmelgroei. Zowel de celkweek als de fluorescentie methodiek lijken in principe te werken, maar de omstandigheden dienen nog verder uitgewerkt te worden.</p>

<p>3. Heeft het project onverwachte (neven)uitkomsten opgeleverd, die vooraf niet waren voorzien? Zo ja, benoem deze.</p>	<p>Een in de literatuur beschreven procesmethode, gebruik van zout en lactaat, bleek in de praktijk niet afdoende effectief te zijn.</p>
<p>4a. Binnen hoeveel jaar zullen de private partijen resultaten uit dit project gaan gebruiken in de praktijk?</p>	<p>Er is nog eerst een vervolgproject nodig om de in vitro testen verder te ontwikkelen, optimaleren en te evalueren. Deze moeten dan vergeleken worden met de muizen-bioassay, waarna het pas mogelijk is om procesmaatregelen te testen. Dit zal waarschijnlijk een tijdsduur van minimaal 2 jaar in beslag nemen bij de start van het vervolgproject.</p>
<p>4b. Kan het gebruik van de resultaten in de praktijk nog worden versneld, en zo ja, wat is daarvoor nodig?</p>	<p>Er wordt momenteel gesproken met deelnemers voor het verder uitwerken van het in vitro testen en ontwikkelen, optimaliseren en evalueren hiervan in een vervolgproject. Dit om de resultaten van de gebruikte methoden de bevestigen en procesmaatregelen te valideren.</p>
<p>4c. Op welke wijze is over het project en de resultaten gecommuniceerd naar de brede doelgroep (incl. niet- deelnemende bedrijven)?</p>	<p>Communicatie rondom de ontwikkelingen van Toxoplasma, gebaseerd op de bevindingen van dit project zullen worden gedeeld met de overige leden van de VNV via hun werkgroep Toxoplasma. Daarnaast wordt er een wetenschappelijke publicatie voorbereid.</p>
<p>5. In hoeverre heeft het project bijgedragen aan de ontwikkeling van de betrokken kennisinstelling(en)? (bijv. wetenschappelijk track record, nieuwe technologie, nieuwe samenwerkingen)</p>	<p>Voor TNO is dit project van groot belang geweest om de RTV technologie verder te ontwikkelen. Tot dit project was de RTV methode alleen toepasbaar op grotere aantallen cellen en ook niet op individueel cel-niveau. Middels het werk binnen dit project is dat nu wel mogelijk, wat een veel bredere toepassing biedt van de technologie. Voor WBVR heeft dit project ook bijgedragen aan ontwikkeling van kennis omtrent Toxoplasma voorkomen en determineren hiervan. Het RIVM heeft de celkweekmethode verder kunnen ontwikkelen en kunnen testen op natuurlijk geïnfecteerd vlees. Daarnaast is in dit project de gevoeligheid van de celkweekmethode vergeleken met de muizenbioassay. Er is meer inzicht verkregen in het effect van de procesmaatregelen. Hierbij gaat het om recepten voor filet americain en rosbief en daarmee om combinaties van additieven waarvoor het effect op Toxoplasma niet eerder is beschreven in de literatuur. Echter, de resultaten laten zien dat de afdoening door de processen niet 100% is en dat meer onderzoek nodig is,</p>
<p>6. Krijgt het project een vervolg in de vorm van een nieuw project of een nieuwe samenwerking? Zo ja, geef een toelichting.</p>	<p>Ja, de sponsor wil graag door met dit onderzoek om de resultaten en bevindingen tot nu toe verder te benutten. Uiteindelijk doel is te komen tot veilige productiemethoden en toepassen van procesmaatregelen bij vleesproducten die rauw geconsumeerd worden. Het gebruik van een proefdiervrije methode voor het aantonen van levende Toxoplasma parasieten in vleesproducten gaat hierbij gebruikt worden.</p>

Highlights: geef een korte beschrijving van de belangrijkste resultaten

Drie potentiële methoden voor snelle detectie van levende (en daarmee infectieuze) Toxoplasma parasieten zijn opgezet/aangepast/getest. De PMA (propidium mono azide) methode bleek niet specifiek genoeg: ook dode parasieten werden gedetecteerd. Weefselkweek als methode om levende Toxoplasma aan te tonen vertoonde veel meer potentie. Ook de RTV (Real Time Viability) methode vertoonde potentie, maar werd in eerste instantie gehinderd door het gebrek aan gespecialiseerde apparatuur. Custom apparatuur werd gedurende de looptijd van het project aangeschaft (niet op projectbudget), maar de levering hiervan bleek helaas te laat om de methode mee te kunnen laten lopen in de vergelijkende studie waarin is gekeken naar het effect van processing maatregelen op de levensvatbaarheid van Toxoplasma en waarin de uitlezing werd gedaan door middel van celkweek en de huidige gouden standaard: een muizen bioassay.

De resultaten van de muisenbioassay wijzen erop dat de ingezette minimale procesmaatregelen gebruikt bij de productie van filet Americain onvoldoende zijn om de Toxoplasma parasiet compleet te inactiveren: er vond duidelijk een reductie plaats in het aantal geïnfecteerde muizen, maar voor alle 5 procesmaatregelen werd in minimaal één van de muizen een Toxoplasma infectie aangetoond. Achteraf was de keuze voor minimale procesmaatregel niet de meest optimale.

Helaas bleek de celkweek, op basis van een verdunningsreeks van parasieten in vleesdigest, minder gevoelig dan de muizenbioassay. Er zijn mogelijkheden voor verbetering van de celkweek methode. Zoals eerder gemeld kon de RTV methode helaas niet worden getest met dezelfde samples tijdens de vergelijkende studie. De huidige RTV resultaten met de nieuwe fluorescentie microscoop zien er veelbelovend uit, maar er zal nog

meer werk gedaan moeten worden voordat er een conclusie geconcludeerd of de RTV methode dan wel de celkweek geschikt zal zijn als vervanging van de muizen bioassay.

Aantal opgeleverde producten in 2017 (geef in een bijlage de titels en/of omschrijving van de producten of een link naar de producten op openbare websites)			
Wetenschappelijke artikelen	Rapporten	Artikelen in vakbladen	Inleidingen/ workshops
		Gezocht: proefdiervrije methode om Toxoplasmaparasieten op te sporen. In: TO2MORROW.	

Bijlage: Titels van de producten of een link naar de producten op een openbare website