



RIVM rapport 250911002/2004

**Het effect van logistiek slachten en/of een
kiemreducerende behandeling op de besmetting
van kippenvlees met Campylobacter**

A.H. Havelaar, E.G. Evers, M.J. Nauta

Dit onderzoek werd verricht in opdracht en ten laste van het Ministerie van Volksgezondheid, Welzijn en Sport en het Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit in het kader van project 250911, CARMA: Campylobacter Risk Management en Assessment.

Abstract

The effect of logistic slaughter and/or germicidal treatment on the contamination of broiler meat with *Campylobacter*

The goal of the CARMA project, within which logistic slaughter was studied here, is to advise the Dutch government on the effectiveness and efficiency of measures aimed at reducing campylobacteriosis in the Dutch population. Logistic slaughter is a method aimed at reducing the health risk to consumers of *Campylobacter* spp. on chicken meat. Testing all broiler flocks and slaughtering all positively tested flocks either at the end of the day or at another location is one method to reduce cross-contamination in the slaughterhouse.

However, only one-third of all infected flocks at the age of slaughter is tested positive. This is due to the long delay (two weeks or more) between sampling done on broiler flocks at the farm and delivery of these flocks to the slaughterhouse. As a consequence, the expected effect of logistic slaughter on the prevalence of *Campylobacter* spp. on chicken carcasses is limited. Furthermore, since the number of campylobacters on a cross-contaminated carcass is considerably lower than on a carcass from a flock that was contaminated upon arrival at the slaughterhouse, this will have little effect on public health. Public health risks could, however, be considerably reduced through a combination of logistic slaughter and germicidal treatment after slaughter of carcasses from positively tested flocks. This combined strategy is only effective when a highly sensitive test is used with a minimum delay between sampling and processing. Germicidal treatment of all flocks circumvents the need for testing, thereby reducing costs and complexity. However, product quality or acceptability may be negatively influenced and the treatment itself incurs costs. Optimising the combination of logistic slaughter and germicidal treatment, while also taking legal aspects into consideration, will be the subject of further studies in the CARMA project.

Voorwoord

Dit rapport is een onderdeel van het CARMA (**C**ampylobacter **R**isk **M**anagement and **A**ssessment)-project. CARMA is een samenwerkingsverband tussen het RIVM, ASG Lelystad, LEI, VWA/ K_vW, RIKILT en de TU Delft. Aan dit rapport werd een bijdrage geleverd door W. Jacobs-Reitsma (ASG Lelystad), R. van Oosterom (VWA/K_vW) en W. Galama (LNV).

Meer informatie over het CARMA project kan worden gevonden op de website www.rivm.nl/carma.

Inhoud

Samenvatting 5

Summary 6

1. Inleiding 7

2. Basisprincipe van logistiek slachten 9

3. Modellerings van het effect van logistiek slachten op de besmetting van vleeskuikens met *Campylobacter* 14

3.1 Modellerings van de prevalentie van besmette koppels 14

3.2 Modellerings van de besmetting van individuele karkassen 14

3.3 Gegevens 15

3.3.1 Koppelmodel 15

3.3.2 Karkasmodel 15

4. Resultaten 16

4.1 Het koppelmodel 16

4.2 Het karkasmodel 18

4.3 Logistiek slachten in combinatie met een kiemreducerende behandeling van positief geteste koppels 20

5. Discussie 23

Literatuur 26

Bijlage 1. Quantifying the effect of logistic slaughter on microbial prevalence 27

Bijlage 2. Het karkasmodel 31

Bijlage 3. Aantallen en prevalenties bepalen samen het risico voor de consument 32

Samenvatting

De besmetting van kippenvlees met *Campylobacter* is onacceptabel hoog. Ondanks intensivering van hygiënemaatregelen in de primaire sector is de besmetting van vleeskuikens in de afgelopen jaren niet gedaald, en het is niet waarschijnlijk dat deze situatie op korte termijn zal veranderen. Om het gezondheidsrisico voor de consument te verkleinen zijn dan ook aanvullende maatregelen in de keten noodzakelijk. Eén van de mogelijke interventies is logistiek slachten. Door alle koppels vleeskuikens te testen en de positief geteste koppels aan het einde van de dag of op een andere locatie te slachten, wordt ernaar gestreefd kruisbesmetting in het slachthuis te beperken. Eventueel kunnen positief geteste koppels aanvullend een kiemreducerende behandeling ondergaan. In dit rapport worden wiskundige modellen gebruikt om de effectiviteit van logistiek slachten en een kiemreducerende behandeling, al dan niet in combinatie, te schatten.

De preventie van kruiscontaminatie blijkt sterk afhankelijk te zijn van de nauwkeurigheid waarmee geïnfecteerde koppels vleeskuikens worden opgespoord. Tengevolge van de lange periode (twee weken of meer) die verloopt tussen bemonstering van koppels op de boerderij en aflevering van deze koppels op het slachthuis wordt slechts eenderde van de geïnfecteerde koppels als zodanig herkend. Dientengevolge wordt een gering effect verwacht van logistiek slachten op de prevalentie van *Campylobacter* op kippenkarkassen. Bovendien blijkt dat de aantallen *Campylobacter* op een karkas na kruiscontaminatie aanzienlijk lager zijn dan op een karkas van een koppel dat bij aanvoer op het slachthuis besmet is. Omdat de kans op humane infectie direct samenhangt met de aantallen *Campylobacter* waaraan de consument wordt blootgesteld impliceert dit dat het voorkómen van kruiscontaminatie in het slachthuis weinig bijdraagt aan reductie van het volksgezondheidsrisico. Een combinatie van logistiek slachten en een kiemreducerende behandeling van karkassen na het slachten kan echter aanzienlijk bijdragen aan reductie van het risico. Deze gecombineerde maatregel is alleen effectief wanneer een gevoelige test wordt gebruikt die zo kort mogelijk voor het slachten wordt ingezet. Een dergelijke test is momenteel nog niet beschikbaar. Daarnaast zijn er wettelijke beperkingen die het gebruik van chemische decontaminatie momenteel verhinderen. Het toepassen van een kiemreducerende behandeling op alle koppels voorkomt de noodzaak tot testen op besmetting met *Campylobacter* spp, wat kan leiden tot lagere kosten en minder ingewikkelde procedures. Echter, sommige kiemdodende behandelingen kunnen een negatief effect hebben op de kwaliteit van het product.

De benodigde gegevens voor het berekenen van de modelresultaten waren slechts in beperkte mate beschikbaar. Daarom is deels gebruik gemaakt van meetgegevens en deels van de beste schattingen van experts. Ondanks de hiermee samenhangende onzekerheid zijn de hierboven genoemde conclusies zeer robuust te noemen.

Summary

The contamination of chicken meat with *Campylobacter* spp. is unacceptably high. Despite intensified hygiene measures in primary production, the prevalence of infection of broiler flocks has not decreased in recent years and it is not likely that this situation will change in the near future. To reduce the health risk to consumers additional measures in the production chain are necessary. One possible intervention is logistic slaughter. Testing all broiler flocks and slaughtering all positively tested flocks either at the end of the day or at another location is one method to reduce cross-contamination in the slaughterhouse. Additionally, positively tested flocks can be treated with bactericidal agents. This reports presents estimates of the effectiveness of logistic slaughtering and germicidal treatment, alone or in combination, based on mathematical modelling.

The prevention of cross-contamination was found to depend strongly on the accuracy with which infected flocks are detected. Due to the long delay between sampling of broiler flocks at the farm and delivery of these flocks to the slaughterhouse, only one-third of all infected flocks are tested positive. As a consequence, the expected effect of logistic slaughter on the prevalence of *Campylobacter* spp. on chicken carcasses is limited. Furthermore, the number of campylobacters on a cross-contaminated carcass was found to be considerably lower than on a carcass from a flock that was contaminated upon arrival at the slaughterhouse. Since the probability of human infection is directly related to the number of campylobacters that consumers are exposed to, this implies that prevention of cross-contamination in the slaughterhouse will have little effect on public health. Public health risks could, however, be considerably reduced through a combination of logistic slaughter and germicidal treatment after slaughter of carcasses from positively tested flocks. This combined strategy is only effective when a highly sensitive test is used with minimum delay between sampling and processing. Such a test is not yet available. Also, legal restrictions currently hinder the application of chemical decontamination. Germicidal treatment of all flocks circumvents the need for testing, thereby reducing costs and complexity. However, product quality may be negatively influenced and the treatment itself incurs costs. Optimising the combination of logistic slaughter and germicidal treatment will be the subject of further studies.

Data to calculate the model results were only partly available. Therefore, a combination of observational data and expert judgement was used. Despite the associated uncertainty, the above mentioned conclusions can be considered as very robust.

1. Inleiding

Infecties met bacteriën van het geslacht *Campylobacter* vormen een belangrijk volksgezondheidsprobleem in Nederland. Volgens de meest recente schattingen leiden jaarlijks deze infecties tot circa 80.000 gevallen van gastro-enteritis, waarvan ruim 18.000 patiënten de huisarts bezoeken en er ongeveer 30 overlijden. Daarnaast zijn er ongeveer 60 gevallen van het Guillain-Barré syndroom, ongeveer 1400 gevallen van reactieve artritis en 10 gevallen van inflammatoire darmziekte. Bij elkaar leiden deze ziektegevallen jaarlijks tot een verlies van ongeveer 1200 gezonde levensjaren en een economische schade van ongeveer 20 miljoen Euro per jaar [10]. Op basis van de gegevens van medisch microbiologische laboratoria wordt geconcludeerd dat zich tussen 1996 en 1999 een lichte daling van de incidentie van met *Campylobacter* geassocieerde gastro-enteritis heeft voorgedaan. Deze daling is echter in de jaren 2000 en 2001 weer gevolgd door een stijging [7].

De belangrijkste reservoirs van *Campylobacter* zijn te vinden in de dierenwereld, zowel (landbouw-)huisdieren als in het wild levende dieren. In kwantitatief opzicht is weinig bekend over het relatieve belang van deze risicofactoren. Een vergelijking op basis van blootstellingsschattingen is in voorbereiding [7]. Een voorlopige schatting, gebaseerd op een beperkt aantal Nederlandse gegevens en extrapolatie van buitenlandse gegevens, suggereert dat kippenvlees verantwoordelijk is voor maximaal 40% van alle humane gevallen van campylobacteriose [7]. Verwacht wordt dat maatregelen gericht op het terugdringen van de besmetting van kippenvlees een belangrijke bijdrage leveren aan het terugdringen van de incidentie van ziekte bij de mens. De besmetting van kippenvlees vindt zijn oorsprong in de primaire sector. In de laatste jaren zijn in de vleeskuikenhouderij verscherpte hygiënemaatregelen geïmplementeerd. Deze maatregelen blijken de besmetting van vleeskuikens en kippenvlees onvoldoende te kunnen inperken. Volgens onderzoek van de Voedsel en Waren Autoriteit / Keuringsdienst van Waren (VWA/KvW) en het Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM) werd een aanvankelijke daling van de prevalentie van *Campylobacter* in koppels vleeskuikens van 1998-2000 gevolgd door een stabilisatie in 2001 en een stijging in 2002. De gegevens van de pluimveesector tonen een zelfde beeld [15]. Verdergaande hygiënemaatregelen zijn mogelijk maar zullen niet leiden tot de productie van gegarandeerd *Campylobacter*-vrije kuikens op slachtleeftijd. Van andere maatregelen in de primaire sector, zoals het verlagen van de gevoeligheid van kuikens (bijvoorbeeld vaccinatie) of het bestrijden van eenmaal geïntroduceerde besmettingen is op korte termijn weinig te verwachten.

Door de VWA/KvW wordt sinds 1990 onderzoek uitgevoerd naar de besmetting van kippenvlees in de winkel met *Salmonella* en *Campylobacter*. De resultaten van het onderzoek geven aan dat de besmetting van kipproducten met *Salmonella* sinds 1996 een dalende trend vertoont, terwijl de besmetting met *Campylobacter* op een constant hoog niveau (30-35%) ligt [17]. Ook de Consumentenbond besteedt regelmatig aandacht aan de besmetting van kipproducten met *Salmonella* en *Campylobacter*. In een recent onderzoek werd geconcludeerd dat de besmetting van kippenvlees met *Campylobacter* nog steeds hoog is, zij het dat er een aanzienlijk verschil is tussen merken [9]. Deze onderzoeksresultaten hebben geleid tot veel beleidsmatige en publieke aandacht. De Voedsel en Waren Autoriteit heeft in

een brief van 17 juli 2003 aan minister Veerman van LNV en Minister Hoogervorst van VWS aangedrongen “op vernieuwing van de afspraken met de pluimveesector, zodat zo spoedig mogelijk in de sector interventies worden toegepast die kunnen leiden tot een blijvende en substantiële daling van genoemde contaminaties”. De Consumentenbond eist in een brief van 22 juli 2003 van de ministers van volksgezondheid (VWS) en landbouw (LNV) “dat het ministerie van VWS nu ingrijpt en een norm stelt voor Salmonella en Campylobacter. Gezien het grote gezondheidsrisico voor consumenten moet deze norm nul zijn. Het ministerie van LNV moet van de sector maatregelen eisen om aan de norm te voldoen. Als de norm niet gehaald wordt dienen er maatregelen te worden getroffen. Dat betekent dat positief geteste kip alleen nog bevroren kan worden verkocht of na verhitting kan worden verwerkt in een kipproduct”.

In het CARMA project wordt onderzoek uitgevoerd naar de effectiviteit en doelmatigheid van interventiemogelijkheden die samen met de bestaande hygiënemaatregelen de besmetting van kippenvlees met Campylobacter zouden kunnen terugdringen [4]. Logistiek slachten, dat wil zeggen het gescheiden behandelen van met Campylobacter geïnfecteerde en niet geïnfecteerde koppels is één van de mogelijke interventies. In dit rapport wordt het effect van logistiek slachten op de besmetting van kippenvlees met Campylobacter geschat. Hierbij wordt gebruik gemaakt van recent ontwikkelde wiskundige modellen. Het rapport geeft eerst een korte beschrijving van de opzet van logistiek slachten, gevolgd door een korte beschrijving van twee modellen die beschrijven hoe tengevolge van logistiek slachten de besmetting met Campylobacter verandert ten aanzien van de prevalentie op koppelniveau en ten aanzien van de aantallen Campylobacter op individuele karkassen. Ook wordt het effect nagegaan van een combinatie van logistiek slachten en een kiemreducerende behandeling. De effectiviteit van logistiek slachten werd vooral beoordeeld in samenhang met de nauwkeurigheid waarmee geïnfecteerde koppels vleeskuikens worden opgespoord.

2. Basisprincipe van logistiek slachten

De bedoeling van logistiek slachten is om kruisbesmetting in het slachthuis te voorkomen door alle te slachten koppels vooraf op besmetting met *Campylobacter* te testen en positief geteste koppels aan het einde van de dag of op een andere locatie te slachten. In een aantal illustraties zal het effect van logistiek slachten worden geïllustreerd. We gaan daar bij wijze van voorbeeld uit van een gemiddelde prevalentie van besmette koppels van 26%, en een slachterij waar dagelijks zes koppels (van bijvoorbeeld 10.000 kuikens) worden geslacht. De volgorde waarin besmette en niet besmette koppels op het slachthuis arriveren is strikt willekeurig. In Figuur 1 is met zwarte balkjes een mogelijke verdeling van positieve en negatieve koppels weergegeven, zoals die op 20 achtereenvolgende dagen op het slachthuis zouden kunnen arriveren. Door toevalseffecten varieert het aantal positieve koppels op een dag tussen 0 en 4, ook de volgorde van positieve en negatieve koppels wordt door het toeval bepaald.

Dag nummer	Koppel nummer					
	1	2	3	4	5	6
1				■		
2						
3				■	■	■
4					■	
5				■		■
6		■	■			
7						
8		■	■	■		■
9			■		■	
10						
11				■		
12						
13	■					
14		■				■
15			■			
16		■			■	■
17						
18			■			■
19						
20	■		■		■	

Figuur 1. Verdeling van besmette (zwarte balkjes) en niet besmette (witte balkjes) koppels bij aankomst op een slachthuis.

We gaan er in dit voorbeeld van uit dat een positief koppel één volgend negatief koppel besmet met *Campylobacter*. Andere aannames zijn uiteraard ook mogelijk en komen later in dit rapport aan de orde. De gestippelde balkjes in Figuur 2 geven dan de koppels aan die onbesmet worden afgeleverd, maar tengevolge van kruisbesmetting tijdens het slachten besmet geraakt zijn. We zien in dit voorbeeld dat van alle 120 koppels die op het slachthuis arriveren, er 31 besmet zijn bij aankomst op het slachthuis, en dat er nog 17 besmet raken

door kruisbesmetting. Met andere woorden, de prevalentie van besmette koppels stijgt van 26% naar 40%.

Dag nummer	Koppel nummer					
	1	2	3	4	5	6
1				■	■	■
2						
3				■	■	■
4						■
5				■	■	■
6		■		■		
7						
8		■		■	■	■
9			■	■	■	■
10						
11				■	■	
12						
13	■	■				
14		■	■			■
15			■	■		
16			■		■	■
17						
18			■	■		■
19						
20	■	■	■	■	■	■

Figuur 2. Kruisbesmetting in het slachthuis (gestippelde balkjes) bij slachten in willekeurige volgorde, zie verder Figuur 1.

Bij logistiek slachten onder ideale omstandigheden (alle geïnfecteerde koppels worden opgespoord) zou de volgorde van de slachtrij worden aangepast, en zouden alle besmette koppels aan het einde van de dag geslacht worden, zie Figuur 3. De prevalentie van besmette koppels blijft dan gelijk aan 26%.

Dag nummer	Koppel nummer					
	1	2	3	4	5	6
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14						
15						
16						
17						
18						
19						
20						

Figuur 3. Slachtvolgorde bij logistiek slachten onder ideale omstandigheden, zie verder Figuur 1.

Echter, als het protocol dat wordt gebruikt om besmette koppels te detecteren een gevoeligheid heeft die kleiner is dan 100%, dan wordt niet ieder koppel dat besmet is ook als zodanig herkend. Dit met name omdat monsters voor bacteriologisch onderzoek twee weken of meer voor het slachten genomen worden. In die tijd raakt een aanzienlijk percentage van de koppels alsnog besmet. In Figuur 4 is een voorbeeld weergegeven voor de koppels uit Figuur 1, maar nu met een gevoeligheid van de test van bijvoorbeeld 52%. Met gestreepte balkjes zijn de koppels weergegeven die wél besmet zijn, maar toch een negatief testresultaat opleveren. In ons voorbeeld zijn dat 15 van de 31 koppels.

Dag nummer	Koppel nummer					
	1	2	3	4	5	6
1				gestreept	zwart	
2						
3				zwart	zwart	zwart
4						
5				gestreept		zwart
6		gestreept	gestreept			
7						
8		zwart	zwart	gestreept		zwart
9					gestreept	
10			gestreept			
11				zwart		
12						
13	gestreept					
14		gestreept				zwart
15		gestreept	zwart			
16		gestreept			gestreept	gestreept
17						
18			gestreept			zwart
19						
20	zwart		zwart		gestreept	

Figuur 4. Resultaten van een testprotocol waarmee 52% van de geïnfecteerde koppels wordt opgespoord (gestreepte balkjes zijn geïnfecteerde koppels met een negatief testresultaat, zie verder Figuur 1).

Wanneer de slachtvolgorde wordt aangepast op grond van de resultaten van dit testprotocol ontstaat een situatie als weergegeven in Figuur 5. We gaan er van uit dat positief geteste koppels naar achteren worden geplaatst terwijl de volgorde van de overige koppels (negatieve koppels en positieve koppels met negatief testresultaat) hetzelfde blijft. Op dag 1 bijvoorbeeld zullen dan koppels 5 en 6 worden verwisseld. Omdat koppel 4 vals negatief is getest, zal uiteindelijk koppel 5 toch positief zijn tengevolge van kruisbesmetting. Het logistiek slachten heeft dus in vergelijking met de situatie in Figuur 2 geen verbetering gebracht. Een verbetering wordt wel gezien op bijvoorbeeld dag 4, waarop het enig positieve koppel ook als zodanig wordt herkend, en als laatste geslacht. Uiteindelijk blijken in ons voorbeeld nog 12 koppels ten gevolge van kruisbesmetting besmet te raken, oftewel door logistiek slachten is de besmetting van 5 koppels voorkomen. Uit dit voorbeeld blijkt duidelijk dat de nauwkeurigheid waarmee geïnfecteerde koppels worden opgespoord, erg belangrijk is.

Dag nummer	Koppel nummer					
	1	2	3	4	5	6
1				▨	▩	■
2						
3				■	■	■
4						■
5				▨	▩	
6		▨	▨	▩		
7						
8		▨	▩	■	■	■
9				▨	▩	
10			▨	▩		
11						■
12						
13	▨	▩				
14		▨	▩			■
15		▨	▩			
16		▨	▩		▨	▨
17						
18			▨	▩		■
19						
20			▨	▩	■	■

Figuur 5. Aangepaste slachtvolgorde op basis van een testprotocol waarmee 52% van de geïnfecteerde koppels wordt opgespoord, zie voor uitleg voorgaande figuren.

3. Modelling van het effect van logistiek slachten op de besmetting van vleeskuikens met *Campylobacter*

In dit hoofdstuk worden twee modellen beschreven, die recent zijn ontwikkeld om de besmetting te kwantificeren van kuikenvlees met bacteriën als *Salmonella* en *Campylobacter* tijdens het slachtproces. Het eerste model beschrijft de besmetting op het niveau van koppels, het tweede op het niveau van individuele karkassen.

3.1 Modelling van de prevalentie van besmette koppels

Evers [6] ontwikkelde een model voor het kwantificeren van het effect van logistiek slachten op de prevalentie van (ziekteverwekkende) bacteriën op kippenkarkassen. Een korte samenvatting volgt onderstaand, zie voor verdere informatie Bijlage 1. In eerste instantie is het model gebruikt om het effect van logistiek slachten op besmetting met *Salmonella* spp. te berekenen. In dit rapport wordt het model gebruikt om het effect op besmetting met *Campylobacter* spp. te berekenen, door gebruik te maken van voor dit organisme specifieke parameter waarden.

Het model voorspelt de fractie besmette eenheden (koppels of dieren; in dit rapport wordt het model toegepast op koppels) bij slachten in willekeurige volgorde of bij logistiek slachten. Er wordt aangenomen dat onbesmette koppels besmet kunnen raken door besmette koppels die eerder op de dag geslacht werden. De bijdragen van deze koppels aan deze besmetting zijn onafhankelijk van elkaar. Verder wordt aangenomen dat een slachthuis onbesmet is aan het begin van de dag en dat een koppel dat besmet is voor de slacht, dat ook is na de slacht. Het model kan doorgerekend worden met numerieke simulaties en voor een beperkt aantal gevallen zijn analytische formules beschikbaar. In dit rapport wordt gebruik gemaakt van deze formules. De meest onzekere factor in het model is de kans op doorgifte van besmetting naar volgende koppels. In het algemeen geldt dat het effect van logistiek slachten groter is bij een grotere kans op doorgifte van besmetting, bij een groter aantal geslachte koppels op een dag en bij een grotere kans op een positief testresultaat bij een geïnfecteerd koppel. Het effect is klein bij lage of hoge prevalentie van geïnfecteerde koppels.

3.2 Modelling van de besmetting van individuele karkassen

Een uitgebreide beschrijving van dit model is gegeven in [12], een korte samenvatting volgt onderstaand. Zie voor verdere informatie ook Bijlage 2.

Dit model beschrijft de veranderingen in de aantallen campylobacters op het karkas, per karkas, tijdens het slachtproces. In vijf stadia (broeien, ontvederen, evisceratie, wassen en koelen) wordt met hetzelfde model de verwijdering, inactivatie en kruisbesmetting van *Campylobacter* beschreven. De kruisbesmetting wordt van een karkas naar de slachtomgeving (water, lucht, apparatuur) en terug gekwantificeerd. Fecale besmetting wordt

hierbij ook meegenomen. Met het model kunnen om te beginnen de effecten van het slachtproces op de mate van besmetting van de karkassen worden doorgerekend. Daarnaast kunnen de effecten van allerlei (combinaties van) interventies vóór en tijdens de slacht worden geëvalueerd.

Voor het effect van logistiek slachten is vooral de besmetting van de slachtomgeving van belang. Logistiek slachten wordt namelijk zinvol geacht omdat kruisbesmetting van een positief koppel naar een daaropvolgend negatief koppel wordt voorkomen. Die kruisbesmetting moet voortkomen uit *Campylobacter* in de slachtomgeving. In het model wordt aangenomen dat de slachtomgeving is op te vatten als één compartiment, waaruit *Campylobacter* kan verdwijnen (door sterfte of verwijdering door wegspoelen en dergelijke) en waar *Campylobacter* binnen kan komen doordat er besmette karkassen doorheen gaan die *campylobacters* “afgeven” aan de slachtomgeving. Omdat dat laatste bij een negatief koppel niet gebeurt, hangt het effect van kruisbesmetting naar een negatief koppel in hoge mate af van de snelheid waarmee *Campylobacter* uit de omgeving “verdwijnt”.

3.3 Gegevens

Voor het doorrekenen van de modellen zijn de volgende gegevens gebruikt:

3.3.1 Koppelmodel

- De prevalentie van positief geteste koppels bij onderzoek van monsters mest op de boerderij, en van caecum monsters op het slachthuis is afgeleid uit gegevens van de Productschappen Vee, Vlees en Eieren (PVE) over 2000, het basisjaar van het CARMA project [18]. In 2000 was gemiddeld 11% van de geteste koppels op de boerderij positief, variërend tussen 5% in het eerste kwartaal en 14% in het derde kwartaal. Op het slachthuis was gemiddeld 35% van de monsters positief, variërend tussen 27% in het eerste kwartaal en 43% in het derde kwartaal. Uit deze gegevens volgt een sensitiviteit van het testprotocol van $11 / 35 = 31\%$.
- Aangenomen werd dat 6 koppels per dag worden geslacht.
- Voor de kans dat een besmet koppel door kruisbesmetting een koppel x plaatsen verder in de slachtrij besmet wordt met twee scenario's gewerkt, te weten het basisscenario: alleen het direct volgende koppel wordt besmet of het alternatieve scenario: alle volgende koppels op dezelfde dag worden besmet. Deze scenario's kunnen worden beschouwd als twee uitersten. Volgens het karkasmodel is het zeer onwaarschijnlijk dat er meer dan één volgend koppel besmet raakt, indien wordt uitgegaan van een koppelgrootte van 10.000 kuikens. Daarom beschouwen we het eerste scenario als het basisscenario.

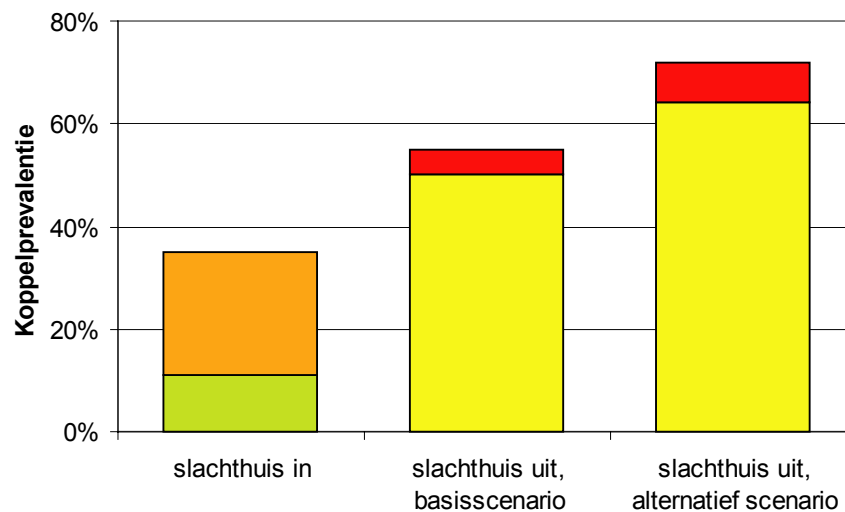
3.3.2 Karkasmodel

Gegevens in het karkasmodel komen voornamelijk uit een formeel expert-beoordelings onderzoek [16]. Hierin is aan twaalf experts gevraagd in te schatten wat de effecten zijn van verschillende slachtprocessen op de aantallen *campylobacters* op karkassen, in zowel positieve koppels, als negatieve koppels die na een positief koppel worden geslacht.

4. Resultaten

4.1 Het koppelmodel

De gemiddelde gemeten prevalentie van besmette koppels op de boerderij, zoals gerapporteerd door de Productschappen Vee, Vlees en Eieren, was in 2000 11%. Gemeten op het slachthuis was de prevalentie van besmette koppels 35%. In het basisscenario (een positief koppel besmet in het slachthuis alleen het volgende koppel) kan dan worden berekend dat na slachten 55% van de koppels besmet is, een stijging met 20%. Door logistiek slachten, waarbij $11/35 = 31\%$ van de geïnfecteerde koppels daadwerkelijk herkend wordt, zou de prevalentie van besmette koppels na slachten blijven steken op 50%. Met andere woorden, van de 20% koppels die door kruisbesmetting positief worden, zou 5%, ofwel eenvierde, door logistiek slachten kunnen worden voorkomen. Echter, ook bij logistiek slachten blijft er dus een aanzienlijke stijging van de koppelprevalentie van 15% in het slachthuis. In het alternatieve scenario (een positief koppel besmet alle op dezelfde dag daaropvolgende geslachte koppels) zijn de resultaten: bij slachten in willekeurige volgorde 72% besmette koppels, bij logistiek slachten 64%. Oftewel een stijging met 37% besmette koppels, waarvan 8%, iets minder dan eenvierde kan worden voorkomen door logistiek slachten. Deze gegevens zijn nog eens grafisch uitgezet in Figuur 6.

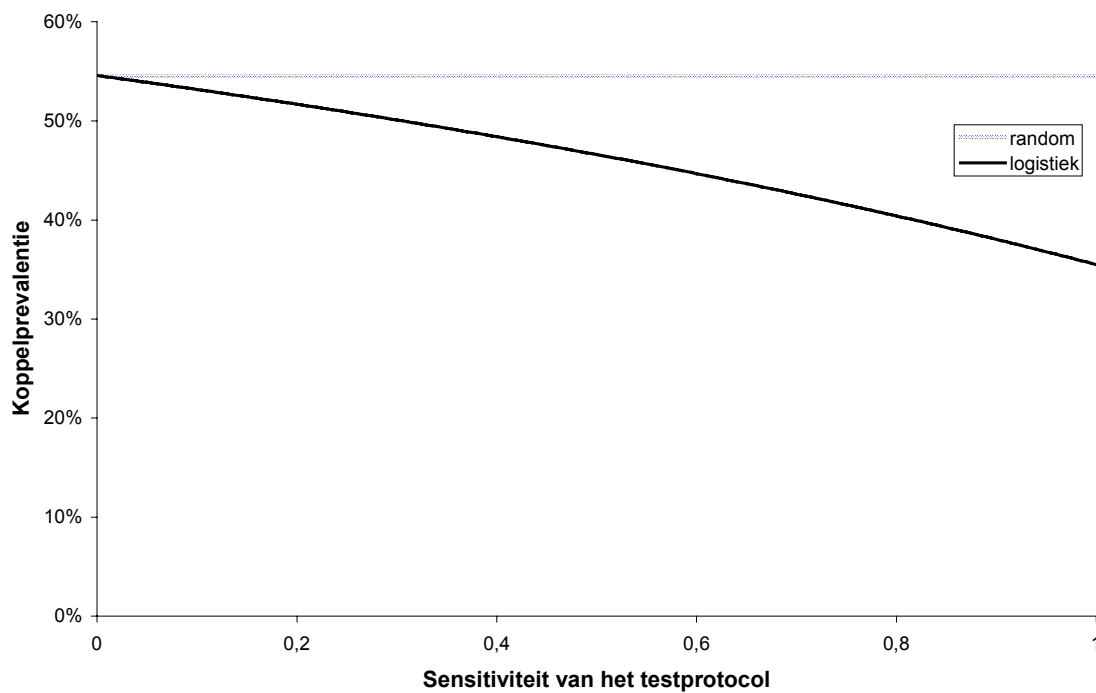


Figuur 6. Effect van logistiek slachten op de prevalentie van Campylobacter in koppels vleeskuikens met bij een sensitiviteit van het testprotocol van 31%.

Linker staaf: prevalentie op de boerderij (onder) en op het slachthuis (boven).

Midden en rechterstaaf: prevalentie met (onder) en zonder (onder + boven) logistiek slachten.

Zoals in hoofdstuk 2 is beschreven, heeft de sensitiviteit van het testprotocol, dat wil zeggen de kans dat een geïnfecteerd koppel als zodanig wordt herkend, een sterke invloed op het effect van logistiek slachten. Dit effect is voor het basisscenario weergegeven in Figuur 7. Het blijkt dat het effect van logistiek slachten vrijwel lineair toeneemt met de sensitiviteit van het testprotocol. Een hoge testsensitiviteit is dan ook van groot belang voor een succesvolle interventie. Bijvoorbeeld, bij een sensitiviteit van het testprotocol van 95% is de koppelprevalentie na logistiek slachten 37%. Dit is slechts 2% hoger dan de prevalentie bij aankomst op het slachthuis van 35%. Bij een sensitiviteit van 75% is de koppelprevalentie na logistiek slachten 42%, een stijging met 7%.



Figuur 7. Effect van logistiek slachten als functie van de sensitiviteit van het testprotocol

4.2 Het karkasmodel

In het karkasmodel wordt met name gerekend met het aantal campylobacters op het uitwendige van een kuiken of karkas. Er is een aanzienlijke mate van onzekerheid in de grootte van deze besmetting, enerzijds omdat er weinig meetgegevens beschikbaar zijn, anderzijds omdat de uit expertschattingen afgeleide modelparameters onzeker zijn. In het volgende wordt gerekend met de beste schatting van het model, op de effecten van de onzekerheid wordt later ingegaan.

De besmetting van kuikens uit een besmet koppel bij de ingang van het slachthuis varieert per kuiken. Uit beschikbare gegevens is geschat dat de uitwendige besmetting een mediane waarde heeft van 10^7 cfu Campylobacter per dier, het rekenkundig gemiddelde is $4,5 \times 10^8$ cfu per dier¹. Tengevolge van enerzijds verwijdering door onder andere broeien en ontvederen, en anderzijds toename door (fecale) kruisbesmetting binnen een koppel, is de mediane besmetting van het uitwendige van een karkas na het slachthuis met een factor 10 afgenomen tot ongeveer 10^6 cfu per karkas, het rekenkundig gemiddelde is ongeveer $3,5 \times 10^6$ cfu per karkas² (90% betrouwbaarheidsinterval tussen 3×10^5 en 2×10^8 cfu per karkas). Wanneer we uitgaan van een koppelgrootte van 10.000 kuikens is de totale flux³ van Campylobacter uit een slachthuis dus gemiddeld $3,5 \times 10^6 \times 10.000 = 3,5 \times 10^{10}$ cfu per besmet koppel. Uitgaande van een werkelijke koppelprevalentie van 35%, en 6 koppels per dag, is de totale flux van Campylobacter uit het slachthuis $0,35 \times 6 \times 3,5 \times 10^{10} = 7,4 \times 10^{10}$ cfu per dag.

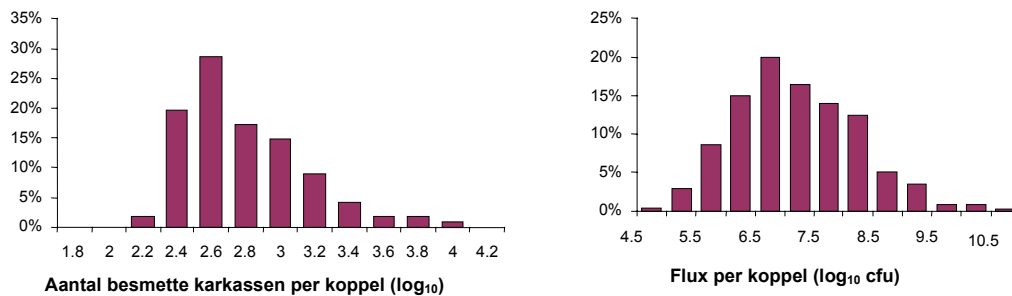
Met het karkasmodel kan eveneens uitgerekend worden hoeveel campylobacters terechtkomen op een koppel dat door kruisbesmetting positief wordt. Daartoe wordt het model eerst doorgerekend met als invoer een besmet koppel. Na afloop van die berekening resteert in het model een zekere besmetting van de “omgeving”, van waaruit een volgend koppel besmet kan raken. Als dus vervolgens het model wordt doorgerekend met als invoer een niet besmet koppel, dan is het resultaat een schatting van het effect van kruisbesmetting. Tijdens het slachten van een onbesmet koppel zullen de aantallen Campylobacter in de omgeving in het slachthuis afnemen, tengevolge van afsterving (denk bijvoorbeeld aan de broeibak) of door verwijdering (bijvoorbeeld met veren). Dit houdt in dat ook het aantal campylobacters dat op een karkas terechtkomt in de loop van de tijd zal dalen, tot op een

¹ Er is een groot verschil tussen de mediaan en het rekenkundig gemiddelde omdat een aantal karkassen met zeer hoge aantallen is besmet, tot meer dan 10^{10} cfu per karkas. Deze waarden beïnvloeden het rekenkundig gemiddelde veel meer dan de mediaan. Omdat het juist de hoog besmette karkassen zijn die het grootste gezondheidsrisico veroorzaken, is het rekenkundig gemiddelde de meest relevante maat om het effect van kruisbesmetting in het slachthuis te beschrijven. Voor een compleet beeld dient een volledig stochastisch model te worden gebruikt. Dit zal in een vervolgfase van het CARMA project worden gerealiseerd.

² Na slachten is de spreiding van aantallen Campylobacters op de karkassen afgenomen. Laag besmette karkassen worden ten gevolge van kruisbesmetting hoger besmet, terwijl bij hoogbesmette karkassen juist verwijdering overheerst. Dientengevolge is het verschil tussen mediane en gemiddelde besmetting na slachten kleiner dan ervoor.

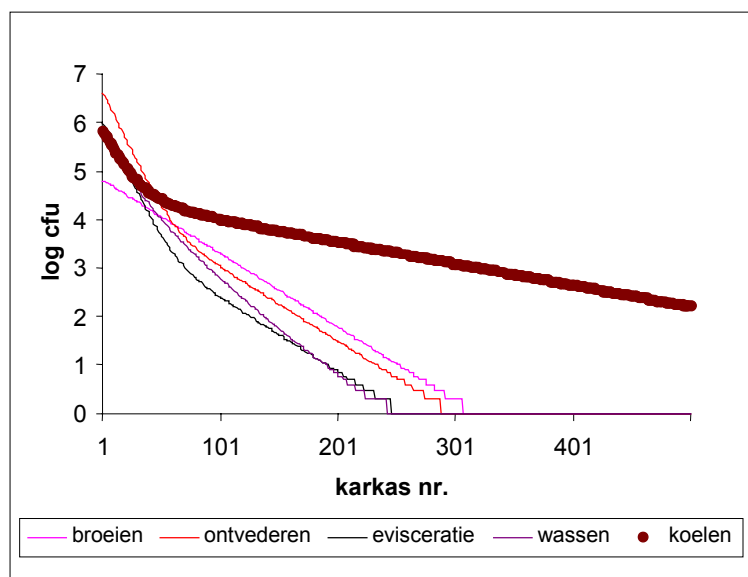
³ Onder flux wordt verstaan de gemiddelde hoeveelheid bacteriën die met een geslacht koppel of met alle op een dag geslachte koppels het slachthuis verlaat.

bepaald moment geen karkassen meer besmet zullen raken. Gemiddeld treedt dit op na passage van ongeveer 500 karkassen (mediane waarde), maar dit aantal is erg onzeker, het 90% betrouwbaarheidsinterval ligt tussen ongeveer 230 en 3000 besmette karkassen, zie Figuur 8.



Figuur 8. Het effect van kruisbesmetting op een onbesmet koppel geslacht direct na een besmet koppel. De verdelingen geven de onzekerheid in de aantallen besmette karkassen per koppel (mediaan 500, 90% betrouwbaarheidsinterval tussen 234 en 3040) en de onzekerheid in de flux per koppel (mediaan $6,3 \times 10^6$ cfu, 90% betrouwbaarheidsinterval tussen $2,5 \times 10^5$ en $6,3 \times 10^8$ cfu).

De totale flux van *Campylobacter* via een kruisbesmet koppel is in te schatten met behulp van computersimulatie. De meeste nabesmetting blijkt plaats te vinden tijdens het koelen, zie Figuur 9.



Figuur 9. Voorbeeldberekening van het aantal bacteriën op de eerste 500 karkassen van een negatief koppel dat geslacht wordt na een positief koppel, respectievelijk na broeien, ontvederen, evisceratie, wassen en koelen. Bij de eerste karkassen is het niveau van besmetting het hoogst. Met name bij het koelen blijkt kruisbesmetting belangrijk te zijn.

Per koppel is de flux tengevolge van kruisbesmetting naar schatting $6,4 \times 10^6$ cfu (de onzekerheid van deze schatting heeft een 90% betrouwbaarheidsinterval tussen de $2,6 \times 10^5$ en $5,9 \times 10^8$). Dit is slechts 0,02 % van de flux van een koppel dat besmet op het slachthuis arriveert.

De resultaten van het koppelmodel en het karkasmodel kunnen worden gecombineerd tot een geaggregeerde schatting van het effect van logistiek slachten op de besmetting van karkassen met *Campylobacter*. Tabel 1 toont een berekening van de relatieve bijdrage van de flux tengevolge van kruisbesmetting ten opzichte van die uit positieve koppels. Het blijkt dat de extra flux verwaarloosbaar klein is, en dat via logistiek slachten in het basisscenario slechts een flux van circa 2×10^6 cfu per dag wordt voorkomen. Indien er een perfecte test zou bestaan zou dit toenemen tot circa 8×10^6 cfu per dag, nog steeds een verwaarloosbaar kleine hoeveelheid ten opzichte van de flux uit koppels die besmet worden aangevoerd.

Tabel 1. Effect van logistiek slachten op de flux van *Campylobacter* uit een slachthuis.

Flux uit geïnfecteerde koppels	$35\% \times 6 \times 3,5 \times 10^{10} = 7,4 \times 10^{10}$ cfu/dag
Extra flux door slachten in willekeurige volgorde, basisscenario	$20\% \times 6 \times 6,4 \times 10^6 = 7,7 \times 10^6$ cfu/dag
Extra flux door logistiek slachten, sensitiviteit 31%, basisscenario	$15\% \times 6 \times 6,4 \times 10^6 = 5,8 \times 10^6$ cfu/dag
Reductie flux door logistiek slachten, sensitiviteit 31%, basisscenario	$7,7 \times 10^6 - 5,8 \times 10^6 = 1,9 \times 10^6$ cfu/dag

4.3 Logistiek slachten in combinatie met een kiemreducerende behandeling van positief geteste koppels

Om de totale flux van *Campylobacter* uit het slachthuis te beperken zullen maatregelen zich met name moeten richten op de besmette koppels. Bij voorkeur wordt de aanvoer van besmette koppels naar het slachthuis zoveel mogelijk beperkt. Echter, de mogelijkheden daartoe zijn momenteel beperkt omdat nog steeds niet duidelijk is wat de risicofactoren voor besmetting van een koppel vleeskuikens met *Campylobacter* zijn, en welke preventieve maatregelen effectief zijn. Een kiemreducerende behandeling van karkassen uit besmette koppels na het slachten is een interventie die op korte termijn effectief kan zijn. Een dergelijke behandeling zal in het algemeen niet leiden tot een volledig negatief koppel, en dus geen effect hebben op de prevalentie van besmette koppels. Wel zullen de aantallen *Campylobacter* per karkas gereduceerd worden, wat zal leiden tot een kleiner risico voor de consument, zie Bijlage 3.

Bij het invoeren van een kiemreducerende behandeling zijn verschillende scenario's mogelijk:

1. Testen van alle koppels voor aanvoer naar het slachthuis, en behandeling van positief geteste koppels. Waarschijnlijk zal in dit scenario er de voorkeur aan gegeven worden om de positieve koppels aan het einde van de dag of in een aparte slachterij te slachten en te behandelen, dus een combinatie van logistiek slachten en een kiemreducerende

behandeling. Voordelen van dit scenario zijn dat de kosten van een kiemreducerende behandeling beperkt worden, nadelen dat het succes van de methode afhankelijk is van de sensitiviteit van het testprotocol en ook meer organisatie vergt.

2. Behandeling van alle koppels, ongeacht de besmetting met *Campylobacter*. Voordelen van dit scenario zijn dat er niet getest hoeft te worden, en dat er derhalve ook geen gevaar is dat het effect van de interventie deels teniet wordt gedaan door een testprotocol met een lage sensitiviteit. Nadelen zijn de hogere kosten en mogelijke problemen met de afzet.

In dit hoofdstuk wordt, uitgaande van de resultaten van hoofdstukken 4.1 en 4.2, nagegaan wat de bijdrage van een kiemreducerende behandeling, al dan niet in combinatie met logistiek slachten, is op de prevalentie en flux van *Campylobacter*.

We gaan uit van een hypothetische kiemreducerende behandelingsmethode, die het aantal campylobacters op een karkas met een factor 20 reduceert. De berekening van het effect van deze ingreep wordt voor het basisscenario, waarbij alleen positief geteste koppels worden behandeld, getoond in Tabel 2. Daarbij wordt de bijdrage van de kruisbesmette koppels, conform bovenstaande resultaten, verwaarloosd. Uit de tabel blijkt dat bij een sensitiviteit van het testprotocol van 31%, de reductie van de flux van *Campylobacter* eveneens 31% bedraagt.

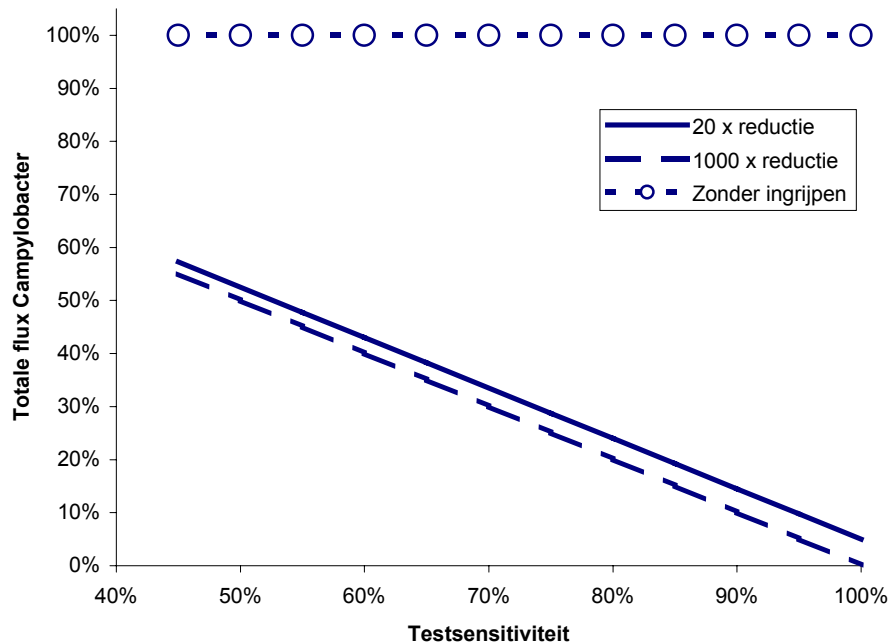
Tabel 2. Effect van logistiek slachten in combinatie met een kiemreducerende behandeling op de totale flux van Campylobacter uit een slachthuis.

Werkelijke prevalentie	35%	
Flux per geïnfecteerd koppel	$3,5 \times 10^{10}$	Campylobacter per koppel
Aantal geslachte koppels	6	per dag
Reductiefactor behandeling	20 x	
Flux zonder ingrijpen	$35\% \times 6 \times 3,5 \times 10^{10} = 7,35 \times 10^{10}$	Campylobacter per dag
Positief geteste koppels	11%	
Vals-negatieve koppels	24%	
Flux behandelde (positief geteste) koppels	$11\% \times 6 \times 3,5 \times 10^{10} \times 1/20 = 1,16 \times 10^9$	Campylobacter per dag
Flux vals-negatieve koppels	$24\% \times 6 \times 3,5 \times 10^{10} = 5,04 \times 10^{10}$	Campylobacter per dag
Totale flux bij ingrijpen	$1,16 \times 10^9 + 5,04 \times 10^{10} = 5,16 \times 10^{10}$	Campylobacter per dag
Reductie van de flux bij een kiemreducerende behandeling met logistiek slachten	$(7,35 \times 10^{10} - 5,16 \times 10^{10}) / 7,35 \times 10^{10} = 30\%$	

Met verwaarlozing van de extra flux door kruisbesmetting, is analytisch af te leiden dat de reductie in flux gelijk is aan $\Delta\Phi = s(1-1/r)$, met s de sensitiviteit van de test en r de reductiefactor van de kiemreducerende behandeling. In het voorbeeld is $s = 31\%$ en $r = 20$, dus $\Delta\Phi = 31\% (1-1/20) = 30\%$.

In Figuur 10 is de reductie van de flux uitgezet als functie van de sensitiviteit van het testprotocol. Uit de figuur (en bovenstaande formule) blijkt dat het effect van een combinatie

van logistiek slachten en een kiemreducerende behandeling sterk afhangt van de sensitiviteit van het testprotocol en veel minder van de reductiefactor bij een kiemreducerende behandeling. Bij een sensitiviteit van 95% en een reductiefactor door een kiemreducerende behandeling van 20x is de reductie van de flux 90%. Indien de reductiefactor door een kiemreducerende behandeling 1000 x zou zijn, zou de reductie van de flux oplopen tot slechts 95%, dus gelijk aan de sensitiviteit. Een test met een dergelijke hoge sensitiviteit, die kort voor het slachten kan worden ingezet, is momenteel nog niet beschikbaar. Wel wordt aan de ontwikkeling gewerkt [19].



Figuur 10. Effect van logistiek slachten in combinatie met een kiemreducerende behandeling op de totale flux van Campylobacter uit een slachthuis.

Als alternatief worden alle koppels behandeld, ongeacht hun Campylobacter status. Het is duidelijk dat de reductie van de flux dan direct samenhangt met de reductiefactor van het een kiemreducerende behandelingproces, dus een reductie van de flux met 95% bij een reductiefactor van 20 en een reductie met 99,9% bij een reductiefactor van 1000. Dezelfde mate van reductie is mogelijk bij logistiek slachten met een perfect testprotocol.

5. Discussie

Onderzoek naar het voorkomen van *Campylobacter* in koppels vleeskuikens of op kippenvlees in de winkel is meestal kwalitatief, dat wil zeggen dat één of meer monsters worden onderzocht op aan- of afwezigheid van deze bacterie. De prevalentie van besmette eenheden is dan ook de maat waarmee meestal wordt gerekend, om de trend gedurende een aantal jaren of het succes van een interventie maatregel te bepalen. De afspraken tussen overheid en bedrijfsleven in het kader van het Plan van Aanpak en het Actieplan 2000 + zijn eveneens gebaseerd op prevalentie maten: “naar een niveau van nul-plus aan het einde van de slachtlijn”. In dit rapport wordt het mogelijke effect van logistiek slachten dan ook in eerste instantie berekend ten aanzien van de prevalentie van besmette koppels. Het blijkt dat in de huidige situatie het effect van logistiek slachten beperkt is, met name omdat de sensitiviteit van het gebruikte testprotocol laag is. Wanneer het testprotocol zou verbeteren dan zou ook het effect van logistiek slachten, gemeten aan de koppelprevalentie, verbeteren. Bijvoorbeeld een methode die sneller resultaat geeft kan korter voor het slachten worden ingezet, en verkleint daarmee de kans dat er tussen monsternamen en transport nog een besmetting in het koppel wordt geïntroduceerd. Als voorbeeld kan de Noorse situatie gelden. In dat land worden monsters 4-8 dagen voor het slachten genomen. De sensitiviteit van het Noorse testprotocol bedraagt 45% [1,2].

De in dit rapport gepresenteerde berekeningen hebben betrekking op slechts één jaar (2000), in andere jaren was de koppelprevalentie anders en vertoonde meer seizoensvariatie. Ook de sensitiviteit van het testprotocol varieert over de jaren. Echter, de conclusies zijn geldig in een breed gebied van zowel de sensitiviteit als de prevalentie.

Wanneer we niet alleen de prevalentie van besmette koppels maar ook de aantallen *Campylobacter* per koppel beschouwen, dan blijkt de door kruiscontaminatie in het slachthuis optredende besmetting van negatieve koppels verwaarloosbaar klein te zijn ten opzichte van de besmetting van koppels die besmet worden aangevoerd. Deze conclusie is gebaseerd op een reeks van berekeningen met een recent ontwikkeld karkasmodel. De parameters van dit model zijn onzeker. Er zijn weinig meetgegevens van de besmetting van kuikens bij aflevering op het slachthuis. Bovendien zijn de parameters die transport en inactivering beschrijven voornamelijk niet gebaseerd op meetgegevens maar op meningen van experts. Zij vertegenwoordigen de best beschikbare kennis maar kunnen desondanks onjuist zijn. Een nadere beschouwing van de effecten van deze onzekerheid is dan ook op zijn plaats. Volgens het karkasmodel is kruisbesmetting tussen koppels (en daarmee ook logistiek slachten) het meest relevant als:

- de slachtomgeving na het slachten van een positief koppel in hoge mate besmet is (dus met een hoge concentratie *Campylobacter*), en
- er weinig afdoding en verwijdering van *Campylobacter* uit de slachtomgeving is, en
- de besmetting uit de omgeving naar het karkas (de “transfer rate”) laag is, maar niet nul.

Volgens de geraadpleegde experts is de mate van afdoding en verwijdering uit de slachtomgeving in de meeste stadia zo groot, dat het effect van kruisbesmetting naar een negatief koppel klein is. Er zijn geen realistische parametercombinaties te vinden die de

conclusie zouden veranderen. Met andere woorden, de conclusie dat kruisbesmetting verwaarloosbaar is ten opzichte van de besmetting bij aanvoer is ondanks de onzekerheden in de modelparameters, zeer robuust te noemen.

In relatieve zin hebben volgens de experts verwijdering en afdoding in de slachtomgeving het minste effect tijdens de koeling. Dit leidt tot het – op het eerste gezicht misschien contra-intuïtieve - resultaat dat kruisbesmetting het meest optreedt tijdens koeling, hoewel de insleep van campylobacters via besmette koppels in deze fase veel geringer is dan tijdens broeien en ontvederen. Deze resultaten zijn in overeenstemming met gegevens van Borck die op basis van PFGE typering van *Campylobacter* in kalkoenslachterijen in Denemarken tot de conclusie kwam dat “cross-contamination appeared to occur mainly during chilling and meat cutting, rather than during slaughter” [5].

Zelfs met een perfect testprotocol zal de bijdrage van preventie van kruisbesmetting op de flux van campylobacters uit een slachthuis verwaarloosbaar klein zijn. Een model waarmee de betekenis van aantallen en prevalentie voor het risico van de consument gekwantificeerd kan worden is nog niet volledig beschikbaar. Bij relatief lage blootstelling is het risico ongeveer recht evenredig met het ingeslikte aantal bacteriën. Daarom kan gesteld worden dat de bijdrage van kruisbesmette koppels aan het risico van de consument eveneens verwaarloosbaar klein is. Een dergelijke conclusie werd eveneens getrokken door Rosenquist *et al.* [13], op basis van een eenvoudiger model dat een vaste verhouding veronderstelt tussen de aantallen *Campylobacter* voor en na het slachtproces. Bij observationeel onderzoek van Miwa *et al.* in Japan werd gevonden dat zelfs een tweede koppel na een positief koppel nog besmet kon raken [11]. Dit lijkt in tegenspraak met onze conclusie dat slechts ongeveer 1000 karkassen besmet raken. Echter, de koppelgrootte in de Japanse slachterij was veel kleiner dan in Nederland gebruikelijk is, en er is een hoge mate van onzekerheid in onze schatting van het aantal kippen dat kruisbesmet raakt. Zoals eerder gesteld heeft deze onzekerheid geen wezenlijke invloed op onze eindconclusie.

Uit bovenstaande blijkt dat onder de huidige omstandigheden, met name ten gevolge van een geringe sensitiviteit van het testprotocol, logistiek slachten slechts een beperkte bijdrage levert aan de beperking van kruisbesmetting in het slachthuis, gemeten aan het aantal besmette koppels. Bovendien blijkt dat de totale flux van *Campylobacter* via een kruisbesmet koppel verwaarloosbaar klein is ten opzichte van een koppel dat op de boerderij al besmet was, zodat zelfs met een ideaal testprotocol (monsternamen kort voor het slachten en een gevoelige analysemethode) de bijdrage van logistiek slachten aan de reductie van de totale flux van *Campylobacter* zeer gering zou zijn.

Meer effect is te verwachten van het introduceren van maatregelen die zich richten op het reduceren van de aanvoer van met *Campylobacter* besmette koppels of het reduceren van de aantallen op karkassen uit deze koppels door het toepassen van een kiemreducerende behandeling na het slachtproces. Wanneer om redenen van kosten of productkwaliteit niet alle geslachte koppels behandeld kunnen worden, behoort een combinatie van logistiek slachten en een kiemreducerende behandeling tot de mogelijkheden. Voorwaarde is dan een hoge sensitiviteit van het testprotocol waarmee besmette koppels worden opgespoord.

Een belangrijke randvoorwaarde bij het toepassen van een kiemreducerende behandeling is de wettelijke toelaatbaarheid. Vooralsnog is voor vers vlees decontaminatie (dat wil zeggen

het behandelen met een chemisch middel) niet toegestaan, want in strijd met de definitie van vers vlees in het Besluit productie en handel vers vlees (Vleeskeuringswet). In EU verband zijn verordeningen in voorbereiding die het gebruik van decontaminatiemiddelen regelen, maar het is nog niet duidelijk wat de inhoud daarvan zal worden. Op dit moment is er dus nog geen voldoende wettelijke basis voor het gebruik van chemicaliën met een kiemreducerend effect. Wel valt het gebruik van fysische behandelingen met een kiemreducerend effect te overwegen. Hierbij kan gedacht worden aan invriezen, behandeling met heet water of stoom en dergelijke. Het is duidelijk dat deze behandelingen de kwaliteit van het vlees sterker kunnen beïnvloeden. Deze behandelingen tasten ook de definitie van vers vlees aan maar zijn minder of niet omstreden. Het inventariseren en evalueren van mogelijke kiemreducerende behandelingen is een belangrijk onderwerp in het CARMA project in 2004.

In dit rapport wordt uitsluitend aandacht besteed aan de effectiviteit van logistiek slachten ten aanzien van besmetting met *Campylobacter*. Daarnaast is er ook belangstelling voor deze maatregel met betrekking tot besmetting met *Salmonella*. Op hoofdlijnen gelden hiervoor dezelfde overwegingen, hoewel uit gegevens van de PVE blijkt dat de gevoeligheid van het testprotocol voor *Salmonella* hoger is dan dat voor *Campylobacter* [15]. Het opzetten van een gecombineerd systeem van logistiek slachten voor zowel *Salmonella* als *Campylobacter* is uiteraard complexer dan een systeem, gericht op één groep bacteriën.

Literatuur

1. Anonymous. Action plan -*Campylobacter* sp. in Norwegian broilers. Summary of results from the surveillance of broiler flocks 2001 (April-December 2001), survey of broiler meat products 2001. Norwegian Zoonosis Centre, 2002. http://www.vetinst.no/arkiv/Zoonosesenteret/camp_rapport_2001-Engelsk.pdf.
2. Anonymous. Action plan -*Campylobacter* sp. in Norwegian broilers. Summary of results from the surveillance of broiler flocks 2002, survey of broiler meat products 2002. Norwegian Zoonosis Centre, 2003. http://www.vetinst.no/arkiv/Zoonosesenteret/Camp_report_2002-Eng.pdf.
3. Anonymous. Hazard characterization for pathogens in food and water. Geneva, Rome: World Health Organization, Food and Agricultural Organization of the United Nations, 2003.
4. Bogaardt MJ, Mangen MJ, De Wit GA, Nauta MJ, Havelaar AH. Controlling *Campylobacter* in the chicken meat chain - towards a decision support model. Bilthoven: National Institute for Public Health and the Environment, 2004. Report nr. 250911005.
5. Borck B. *Campylobacter* spp. in the Danish turkey production [dissertation]. Copenhagen, Denmark: The Danish Veterinary Institute and The Royal Veterinary and Agricultural University, 2003.
6. Evers EG. Quantifying the effect of logistic slaughter on microbial prevalence. Submitted for publication.
7. Evers EG, Van der Fels-Klerx HJ, Havelaar AH, Nauta MJ, Schijven JF. Het relatieve belang van *Campylobacter* transmissieroutes op basis van blootstellingsschatting. Bilthoven: Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, in voorbereiding. Rapport nr. 250911004.
8. Havelaar AH, Nauta MJ, Jansen JT. Fine-tuning Food Safety Objectives and risk assessment. *Int J Food Microbiol*. In press.
9. Kramer G, Luijk R, Groothuis K. Integrale vergelijking van regulier en biologisch kippenvlees. Maatschappelijke aspecten en voedselveiligheid. Den Haag: Consumentenbond, 2003. Projectnummer PS02007.
10. Mangen MJ, Havelaar AH, De Wit AG. *Campylobacteriosis* and sequelae in the Netherlands- Estimating the disease burden and the cost-of-illness. Bilthoven: National Institute of Public Health and the Environment, in preparation. Report nr. 250911003.
11. Miwa N, Takegahara Y, Teria K, Takeuci T. *Campylobacter jejuni* contamination on broiler carcasses of *C. jejuni* negative flocks during processing in a Japanese slaughterhouse. *Int J Food Microbiol* 2003;84:105-9.
12. Nauta M, Van der Fels-Klerx I, Havelaar A. A poultry processing model for quantitative microbiological risk assessment. Submitted for publication.
13. Rosenquist H, Nielsen NL, Sommer HM, Norrung B, Christensen BB. Quantitative risk assessment of human *campylobacteriosis* associated with thermophilic *Campylobacter* species in chickens. *Int J Food Microbiol* 2003;83:87-103.
14. Teunis PF, Havelaar AH. The beta Poisson dose-response model is not a single-hit model. *Risk Anal* 2000;20:513-20.
15. Valkenburgh SM, Van Oosterom RAA, Meijer-Leegwater MPM, Van Pelt W, Komijn RE. Report on trends and sources of zoonotic agents, the Netherlands 2002. Den Haag: Ministry of Public Health, Welfare and Sports, 2003.
16. Van der Fels-Klerx HJ, Cooke RM, Nauta MJ, Goossens LHJ, Havelaar AH. A Structured Expert Judgment Study for a Model of *Campylobacter* Contamination during Broiler Chicken Processing. Submitted for publication.
17. Van der Zee H, Wit B. Monitoring pathogenen in kip en kipproducten, jaar 2002. Zutphen: VWA/Keuringsdienst van Waren Oost, 2003. Projectnummer OT 0209.
18. Van Pelt W, Valkenburgh SM. Zoonoses and zoonotic agents in humans, food, animals and feed in the Netherlands, 2001. The Hague: KvW - Inspectorate for Health Protection and Veterinary Public Health, 2001. 59 pp.
19. Wagenaar JA, De Goffau K, Achterberg R, Dijkstra J, Jacobs-Reitsma W, Lambers J. The use of an enzyme linked immunoassay for the detection of *Campylobacter* in poultry caecal samples. *Int J Med Microbiol* 2001;291:107-8.

Bijlage 1. Quantifying the effect of logistic slaughter on microbial prevalence

Introduction

Slaughterhouses are often seen as the link where interventions will have a relatively large effect and are feasible. One intervention that can be applied in slaughterhouses is logistic slaughter. The aim of this research is to present a simple mathematical model with which the effect of logistic slaughter on pathogen prevalence after slaughter can be quantified.

Model

General

We refer to Table 1.1 for explanation of the symbols used. Three types of units entering the slaughterhouse are distinguished: P_{C-} , P_{C+} and P_U . The following equations hold:

$$P_C = P_{C+} + P_{C-}$$

$$P_C + P_U = 1$$

$$P_{C-} = (1 - Se)P_C$$

Table 1.1. Symbols used.

Symbol	Definition
P_C	probability of a contaminated unit entering the slaughterhouse
Se	sensitivity: probability of a positive test of a contaminated unit
P_{C-}	probability of a negative contaminated (= false negative) unit entering the slaughterhouse
P_{C+}	probability of a positive contaminated unit entering the slaughterhouse
P_U	probability of an uncontaminated unit entering the slaughterhouse
$P_{cc,x}$	probability of cross-contamination from a unit that is contaminated to a unit x places further in the slaughter queue
n	length of the slaughter queue
j	the number of cross-contaminated units
F_C	fraction of contaminated units leaving the slaughterhouse

The calculations can be done using numerical simulations or analytical formulae. The results presented here were obtained using numerical simulations. For this, Excel 97 with @Risk 4.0.5 Add-in was used. One simulation consists of 10,000 iterations using Latin Hypercube sampling.

Analytical formulas are presented below for a subset of the cross-contamination structures covered by numerical simulations: $P_{cc,x}$ is set to 0 or 1. Two conditions will be distinguished.

Random slaughter

In case of cross-contamination to j places maximum (condition 1), the expected value of F_C equals

$$E(F_C) = P_C \sum_{i=n-j}^n \frac{i}{n} P_U^{n-i}$$

If all units after a contaminated unit become contaminated (condition 2), j is equal to $n-1$ and the equation above becomes

$$E(F_C) = P_C \sum_{i=1}^n \frac{i}{n} P_U^{n-i}$$

Logistic slaughter

In case of cross-contamination to j places maximum (condition 1), The expected value of F_C equals

$$E(F_C) = P_C + \sum_{k=0}^{n-2} \sum_{i=1}^m \text{Bin}(k | n, P_{C+}) \frac{n-k-i}{n} \frac{P_U^i P_{C-}}{(P_U + P_{C-})^{i+1}}$$

for $1 \leq j \leq n-1$ and $n \geq 2$, with $m = \min(j, n-k-1)$.

If all units after a contaminated unit become contaminated (condition 2), this equation applies also, with $j = n-1$ which implies that $m = n-k-1$.

Salmonella in Broilers

As a case study, the numerical model was applied to *Salmonella* prevalence of broilers at the flock level processed in a comparatively large slaughterhouse in the Netherlands for the situation end 2000. Values used are $P_{C+} = 0.10$, $Se = 0.4$, and $n = 6$. For $P_{cc,x}$, we considered $P_{cc,x} = 1$ for all flocks after a contaminated flock (scenario 'all'; equals condition 2 above); $P_{cc,x} = 1$ for the flock after a contaminated flock and $P_{cc,x} = 0$ for the other flocks (scenario 'one'); $P_{cc,x} = 0.75^{x-1}$ (scenario 'ave'); and the scenario of no cross-contamination (scenario 'zero').

Results

Fig. 1.1 shows that mean F_C , and the reduction of mean F_C by applying logistic instead of random slaughter, increase with the amount of cross contamination.

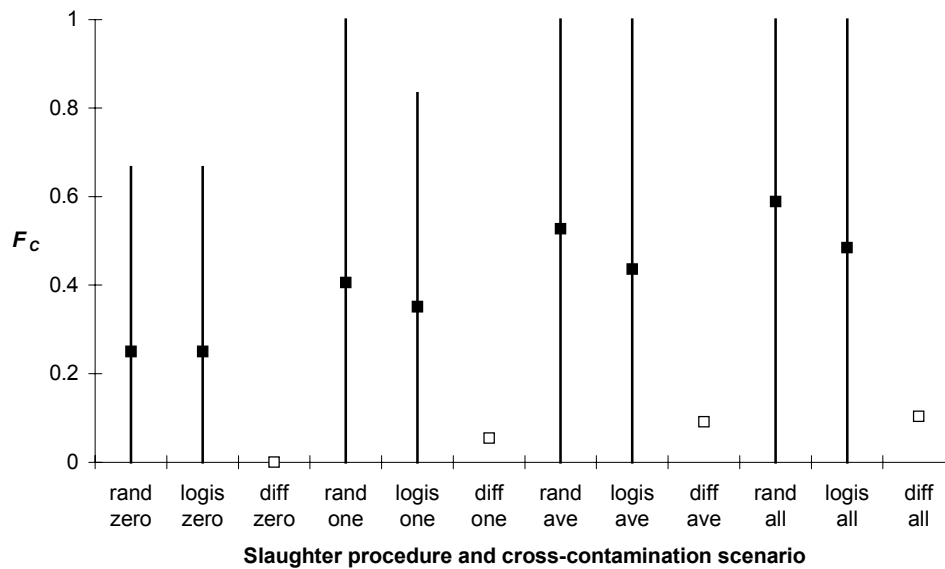


Figure 1.1. F_c (mean and 95% c.i.) as a function of slaughter procedure and cross-contamination scenario.

Fig. 1.2 shows that the difference in mean F_c between slaughter procedures increases almost linearly with Se .

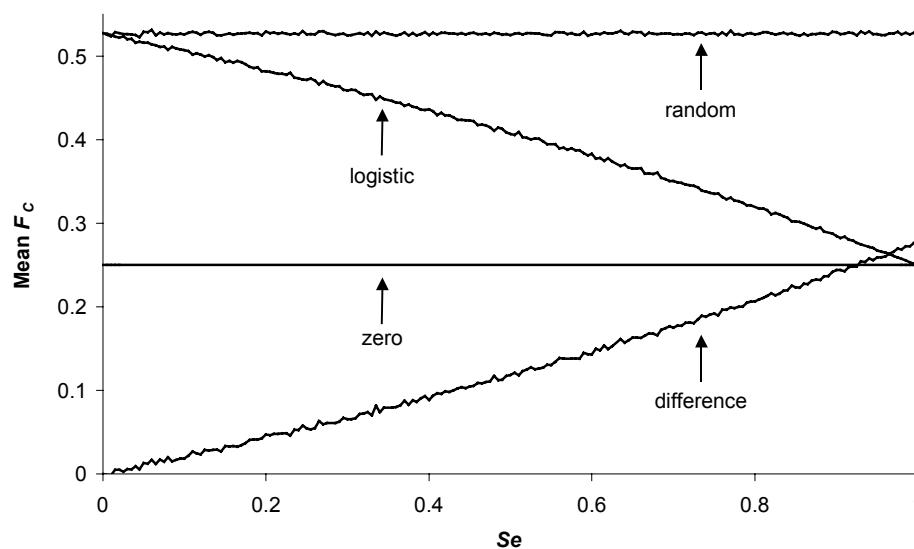


Figure 2. Mean F_c for the average scenario as a function of slaughter procedure and Se .

Conclusions

Logistic slaughter is more effective if there is much cross-contamination ($P_{cc,x}$ is high), the slaughter queue is long (n is large) and sensitivity of the microbiological test procedure is high (Se is large). The effect is small if the prevalence of contaminated flocks (P_c) is close to 0 or 1. Limited data availability (especially on $P_{cc,x}$) makes a reliable estimate of the effect of

logistic slaughter difficult. For Salmonella in broilers in the Netherlands (situation end 2000), logistic slaughter is estimated to reduce the fraction of contaminated flocks after slaughter by 0.09 (9%).

Bijlage 2. Het karkasmodel

A chicken processing model for quantitative microbiological risk assessment of Campylobacter

Maarten Nauta¹, Ine van der Fels-Klerk¹, Roger Cooke², Louis Goossens² and Arie Havelaar¹

¹Microbiological Laboratory for Health Protection, RIVM
²Delft University of Technology, Netherlands
 maarten.nauta@rivm.nl

Summary

A mechanistic poultry processing model is developed for the Dutch Campylobacter risk management and assessment project (CARMA). The predicted relationship between the log loads of campylobacter on the carcasses before and after each processing stage is not linear. This has implications for the effect of risk mitigation: interventions in preceding stages of the production chain may not be as effective as expected.

Introduction

Poultry processing is an important step in the farm to fork food pathway considered in CARMA. A Quantitative microbiological risk assessment model for poultry processing has been developed, that incorporates the effects of cross-contamination, inactivation and removal and can be applied to each relevant poultry processing stage: scalding, defeathering, evisceration, washing and cooling.

Model

The model describes the transfer of campylobacter for carcasses processed in line from the intestines to the carcass surface, from the carcass to the environment and from the environment to the carcass. (See fig 1)

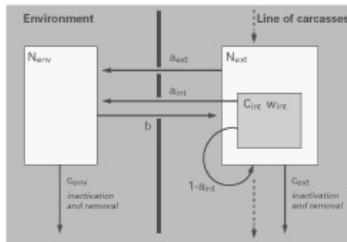


Fig. 1. Model diagram. At any stage during processing, consecutive carcasses (at the right) pass an environment (at the left), as indicated by dashed arrows. Cross-contamination may occur between the exterior and interior of the carcasses to the environment. Next, campylobacters on the carcass and in the environment may be inactivated.

Model equations per processing stage S (scalding, defeathering, etc) and carcass J are:

$$N_{ext,S}(j) = (1 - a_{ext,S}) N_{ext,S-1}(j) + b_{int,S} N_{int,S-1}(j) + (1 - a_{int,S}) w_{int,S}(j) C_{int,S}(j)$$

$$N_{int,S}(j+1) = a_{ext,S} N_{ext,S-1}(j) + (1 - b_{int,S}) (1 - c_{ext,S}) N_{ext,S}(j) + a_{int,S} w_{int,S}(j) C_{int,S}(j)$$

With $N_{ext,S}(j)$ the level of contamination on the exterior of carcass j , $C_{int,S}(j)$ the concentration in the faeces, and $N_{int,S}(j+1)$ the level of contamination in the environment for the next carcass ($j+1$) in line. The output of stage S-1 is the input of stage S. Clearly, after evisceration faecal leakage no longer occurs.

For each stage S, the model holds the following parameters:

- $a_{ext,S}$ probability per cfu to move from the carcass exterior to the environment.
- $b_{int,S}$ probability per cfu in the environment to move to the carcass exterior.
- $w_{int,S}(j)$ amount of faeces (gram) that leaks from carcass j .
- $a_{int,S}$ probability per cfu in leaking faeces to move to the environment (with corresponding probability to move to the carcass exterior).
- $1 - a_{int,S}$ probability per cfu of inactivation or removal in the environment.
- $c_{ext,S}$ probability per cfu of inactivation or removal on the carcass exterior.

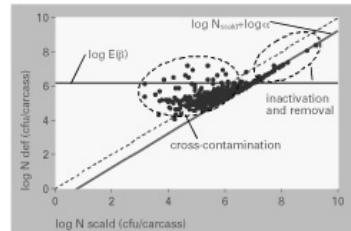


Fig. 2. Illustrative input - output relation of $\log(N_{ext})$ for defeathering in a Monte Carlo simulation. The effect of cross-contamination is dominant when $N_{ext,scald} < E(b)/\alpha$ ($\approx 10^7$). When $N_{ext,scald} > E(b)/\alpha$, inactivation and removal dominate. Most values of $\log(N_{ext,def})$ lie below the expected value of $\log(E(b))$ (≈ 6.15). Reasons for this are: (1) not all carcasses show faecal leakage. (2) due to the log scale, points above the line $\log(E(b))$ have more weight than those below that line: the mean $E(b)$ lies in the tail of the distribution.

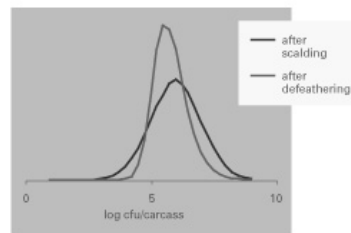


Fig. 3. Changing distributions of $\log(N_{ext})$. After defeathering, the distribution of numbers of campylobacter on the carcass narrows. Low values increase by cross-contamination, high values decrease by removal and inactivation. (See fig 2)

References

- ¹Van der Fels-Klerk, H.J., et al. in preparation.
- ²Rosenquist, H., et al. (2003). Int J Food Microbiol 83: 87-103.
- ³Fischer, E. et al. poster CHBO 2003.
- ⁴Mlyns S, Nauta M, Havelaar A. CARMA: modelling transmission of Campylobacter in the consumer phase, poster CHBO 2003. See www.rivm.nl/carma for more information on the project.

Model analysis

The input-output relationship of the number of campylobacters can be written as

$$N_c = \alpha N_{c-1} + \beta$$

with $N_c = N_{ext,S}(j)$ and $\alpha = [1 - a_{ext,S}] (1 - c_{ext,S})$ and $\beta = b_{int,S} N_{env,S}(j) + (1 - a_{int,S}) w_{int,S}(j) C_{int,S}(j)$. α describes the inactivation and removal from the carcass, β describes the effect of cross-contamination.

Microbiologists usually work with logs of numbers of bacteria. Using logs we get a non-linear equation

$$\log(N_c) = \log(\alpha N_{c-1} + \beta)$$

which can be approximated by

$$\log(N_c) = \log(\beta) \quad \text{if } N_{c-1} < \beta/\alpha, \text{ and}$$

$$\log(N_c) = \log(N_{c-1}) + \log(\alpha) \quad \text{if } N_{c-1} > \beta/\alpha.$$

The criterion $N_{ext,S} = E(b)/\alpha$ is the threshold for two approximate linear relationships. This decides whether cross-contamination or inactivation and removal will dominate the process (fig 2). Due to the combination of these effects the shape of the distribution of N_{ext} may change (fig3).

The input-output relationship is not additive on a logarithmic scale when cross-contamination dominates the process. This non-linearity implies that the effect of lowering levels of campylobacter by risk mitigation needs not be progressed linearly throughout the CARMA poultry processing model. Hence, the effect of intervention may be improperly estimated if a linear model is assumed².

As the total amount of campylobacters in the environment is crucial for the effect of cross-contamination, the arithmetic mean of the level on the carcasses is a better indicator than the geometric mean. Unfortunately only the latter is commonly reported in microbiological literature.

Application in CARMA

As applicable and representative microbiological data could not be found, the model is applied in CARMA by using parameter estimates provided by an expert elicitation study³. Input distributions of the model will be provided by the CARMA farm model³ and the output will be linked to the consumer phase model⁴. Effects of risk mitigations (like logistic slaughter, improved testing and channelling and product freezing and decontamination) will be evaluated with the model.

Conclusions

- Assuming a linear input-output model for log counts of campylobacter on the carcasses is not realistic when cross-contamination is relevant.
- This assumption may lead to improper estimation of the effects of risk mitigation.
- The arithmetic mean of microbiological counts should be presented when data are reported.
- The model will be linked with the farm model³ and the consumer model⁴ for exposure assessment.



P.O. Box 1, 3720 BA, Bilthoven, the Netherlands
www.rivm.nl



Research for man and environment

Bijlage 3. Aantallen en prevalenties bepalen samen het risico voor de consument

In de microbiologische risicoschatting nemen dosis-responsmodellen een belangrijke plaats in. Onlangs zijn door de World Health Organization en de Food and Agricultural Organization van de Verenigde Naties de “Guidelines for hazard Characterization of Pathogens in Water and Food” gepubliceerd [3]. In deze Guidelines worden wiskundige modellen beschreven die de relatie beschrijven tussen de kans op ziekte in relatie tot de hoeveelheid ziekteverwekkers waaraan een individu wordt blootgesteld. Zulke modellen zijn gebaseerd op een aantal uitgangspunten:

- Ziekte ten gevolge van infectieuze organismen kan worden beschouwd als een keten van op elkaar volgende gebeurtenissen. Na blootstelling kan de gastheer al dan niet geïnfecteerd worden. Infectie wordt hierbij gedefinieerd als de toestand waarin het microorganismen zich kan handhaven en vermeerderen in de gastheer. Infectie kan asymptomatisch zijn of leiden tot ziekteverschijnselen. Ziekteverschijnselen kunnen zelflimiterend zijn, verdwijnen ten gevolge van medisch handelen maar kunnen ook leiden tot complicaties, chronische ziekte of sterfte. Elk van deze gebeurtenissen kan worden beschouwd als een kansproces.
- De eerste stap is van blootstelling naar infectie. Algemeen wordt aangenomen dat het aantal micro-organismen waaraan een gastheer wordt blootgesteld een belangrijke factor is. Daarnaast zijn ook de eigenschappen van het micro-organisme, de gastheer en het medium waarin het micro-organisme voorkomt van invloed (“infectieuze driehoek”).
- Dosis-respons modellen voor infectie zijn gebaseerd op twee hypothesen,
 - de single-hit hypothese: infectie kan het resultaat zijn van het overleven van 1 enkel infectieus micro-organisme;
 - onafhankelijke actie: de kans dat een enkel deeltje infectie veroorzaakt is onafhankelijk van het aantal deeltjes waarmee de besmetting plaatsvond.

Er wordt dus geen drempelwaarde (“minimale infectieuze dosis”) verondersteld, zelfs blootstelling aan één enkel infectieus deeltje kan leiden tot infectie en ziekte, al zal in het algemeen de kans daarop klein zijn. Voor *Campylobacter jejuni* wordt op basis van een experiment met gezonde, immunologische naieve vrijwilligers geschat dat $r = 0,018$ [14]. Met andere woorden, de kans op infectie bij blootstelling aan 1 cfu is ongeveer 2%. Aanvullende aannames leiden tot verschillende vormen van de modellen, maar een eigenschap van alle modellen uit de single-hit familie is dat ze bij lage doses ongeveer lineair zijn:

$$P_{inf} \approx r \times D$$

waarin P_{inf} de kans is op infectie bij inslikken van een gemiddelde dosis D en r de kans is op infectie per enkel infectieus deeltje. Belangrijk is dat D hier de **rekenkundig** gemiddelde

dosis is. Wanneer niet alle geconsumeerde porties voedsel besmet zijn, dient ook rekening gehouden te worden met de prevalentie p van besmette porties:

$$P_{inf} \approx p \times r \times D$$

Uit deze formule blijkt dat het risico direct evenredig is met zowel de prevalentie als het aantal infectieuze organismen in een geconsumeerd portie voedsel. Dit houdt tevens in dat de prevalentie van besmetting een maat is die onvoldoende inzicht geeft in het risico. Steeds zullen ook de aantallen *Campylobacter* op besmette eenheden in beschouwing moeten worden genomen. Voor meer informatie over het relatieve belang van prevalentie en aantallen wordt verwezen naar Havelaar *et al.* [8]