



Rijksinstituut voor Volksgezondheid  
en Milieu  
*Ministerie van Volksgezondheid,  
Welzijn en Sport*

**Analyse monitoring data 'convenant  
Campylobacter aanpak pluimveevlees  
Nederland'**

RIVM briefrapport 330331005/2012  
A.N. Swart | A.H. Havelaar



Rijksinstituut voor Volksgezondheid  
en Milieu  
*Ministerie van Volksgezondheid,  
Welzijn en Sport*

## **Analyse monitoring data 'convenant Campylobacter aanpak pluimveevlees Nederland'**

RIVM Briefrapport 330331005/2012  
A.N. Swart | A.H. Havelaar

## Colofon

© RIVM 2012

Delen uit deze publicatie mogen worden overgenomen op voorwaarde van bronvermelding: 'Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM), de titel van de publicatie en het jaar van uitgave'.

A.N. Swart  
A.H. Havelaar

Contact:  
A.N. Swart  
CIb/LZO  
[arno.swart@rivm.nl](mailto:arno.swart@rivm.nl)

Dit onderzoek werd verricht in opdracht van Ministerie van VWS, Directie VGP, in het kader van Kennisvraag 5.2.9, Programma 5

## Rapport in het kort

### **Analyse data 'Convenant Campylobacter aanpak pluimveevlees Nederland'**

Pluimveevlees kan besmet zijn met de ziekteverwekkende bacterie *Campylobacter*. Dit kan een risico vormen voor de volksgezondheid als de consument onvoldoende keukenhygiëne in acht neemt, bijvoorbeeld door rauw vlees in aanraking te laten komen met andere producten of vlees onvoldoende te verhitten. Een besmetting veroorzaakt meestal diarree, maar kan ook tot ernstigere klachten leiden, zoals het prikkelbare darmsyndroom.

Het RIVM heeft een objectieve risicomaat gebruikt om metingen van aantallen *Campylobacter*-bacteriën op kippenvlees om te zetten naar een indicator voor het aantal te verwachten zieken. Het risico blijkt per slachthuis te kunnen verschillen. Met deze informatie kunnen daardoor specifieke maatregelen worden ingezet.

In 2008 is een convenant getekend tussen de pluimveesector (vertegenwoordigd door NEPLUVI) en het ministerie van VWS. Dit convenant bepaalde dat karkassen van vleeskuikens in zestien slachthuizen in 2009 en 2010 wekelijks zouden worden getest. Gemeten zijn de aantallen *Campylobacter* op het vel en de aantallen *Campylobacter* op de filet van de vleeskuikens, nadat ze in de slachthuizen waren gekoeld. De aantallen *Campylobacter* waren tijdens de zomermaanden tot een factor tien hoger dan in de wintermaanden.

Deze informatie is nu benut om met wiskundige modellen te berekenen wat de blootstelling van de consument was bij de bereiding van kipfilet in de keuken. Deze schatting van de blootstelling is vervolgens gecombineerd met een zogenoemde dosis-responsrelatie, die de kans op ziekte aangeeft als mensen bepaalde hoeveelheden bacteriën binnenkrijgen. Het gemiddelde risico van een portie kipfilet bleek in de zomermaanden hoger te zijn dan in de winter.

Er zijn duidelijke verschillen aangetroffen tussen de risico's van producten die van verschillende slachterijen afkomstig waren. Twee van de zestien slachthuizen lieten een duidelijk verhoogd risico zien. De periodes van hoger risico vielen niet altijd samen met de zomerperiode. Dit wijst erop dat er ook andere oorzaken aan de orde waren, zoals de proceshygiëne in de slachterijen of een hoge besmettingsgraad bij pluimveehouders. Elf slachterijen produceerden vlees waarvan het risico lager dan het gemiddelde was.

De sector is inmiddels begonnen maatregelen te treffen, zoals een betere slachthygiëne of een betere afstelling van de apparatuur. In samenwerking met onder andere het RIVM zet NEPLUVI dit onderzoek voort om nauwkeurigere analyses te kunnen maken, onder andere van de effecten van de getroffen maatregelen.

Trefwoorden: *Campylobacter*, kippenvlees, risicobeoordeling, monitoring,

## Abstract

### **Analysis of the data 'Covenant Campylobacter broiler meat in the Netherlands'**

Broiler meat may be contaminated with pathogenic *Campylobacter* bacteria. When proper hygiene in the kitchen is lacking, this may entail a risk for public health, for example, when meat is inadequately cooked, or cross-contamination may have occurred between the meat product and kitchen utensils. An infection typically leads to diarrhea, but may also lead to more severe outcomes such as irritable bowel syndrome.

RIVM has applied an objective risk measure, that can translate *Campylobacter* contamination of poultry meat to disease incidence for humans. The risks were found to vary over slaughterhouses. The method is therefore useful for assessing the effect of specific interventions aimed at lowering the contamination load.

In 2008 a covenant was signed between the poultry industry (as represented by NEPLUVI) and the ministry of Health Welfare and Sports (VWS). This covenant stipulated that broiler carcasses in 16 poultry slaughterhouses would be regularly tested in 2008 and 2009. Measured were actual numbers of *Campylobacter*, on both the skin and fillet after cooling. During the summer months, *Campylobacter* numbers were up to a factor ten higher as compared to winter months.

Using this information, we modeled the exposure for consumers, including preparation in the kitchen. The estimate of exposure was combined with a dose-response relation, which gives the probability of illness associated with a particular dose of pathogens. The average risk associated with a portion chicken fillet was found to be higher during summer months.

Clear differences were observed between products originating from different slaughterhouses. Two out of 16 slaughterhouses showed a clearly elevated risk. The periods of higher risk did not always coincide with summer months. This indicates that other causes are relevant, such as general hygiene in slaughterhouses, or a high prevalence of infection at the broiler farm. Eleven slaughterhouses produced meat which was contaminated below average.

The sector has already initiated interventions, such as improvement of hygiene and tuning of equipment. In collaboration with RIVM, the sector continues this research, to make additional analyses of, e.g., the effect the interventions.

Keywords: *Campylobacter*, broiler meat, risk assessment

## Inhoud

<b>1</b>	<b>Inleiding—6</b>
<b>2</b>	<b>Convenant data—7</b>
<b>3</b>	<b>Data analyse—8</b>
<b>4</b>	<b>Risk-assessment aanpak—11</b>
4.1	Overzicht—11
4.2	Modelbeschrijving—12
4.3	Inbreng van de data in het consumentenmodel—14
4.4	Fourier analyse—15
<b>5</b>	<b>Resultaten van het consumentenmodel—16</b>
<b>6</b>	<b>Statistische analyse—20</b>
<b>7</b>	<b>Conclusies en discussie—22</b>
7.1	Vervolgonderzoek—22
	Literatuur—24

## 1 Inleiding

Campylobacter is een ziekteverwekker die voornamelijk gastroenteritis klachten veroorzaakt. In een klein deel van de infecties kunnen ernstiger sequelae optreden, zoals bijvoorbeeld het Guillain-Barré syndroom en het prikkelbare darmsyndroom. Campylobacteriose wordt veelal gezien als een voedselgerelateerde infectie, met kippenvlees als belangrijke bron. Er zijn echter ook aanwijzingen dat andere routes een rol kunnen spelen, zoals direct contact met dieren, consumptie van rauw voedsel of routes via de omgeving (Havelaar, van Pelt et al. 2009). De precieze bijdragen van de verschillende bronnen zijn echter lastig te kwantificeren.

Teneinde een beter inzicht te krijgen in de besmettingsniveaus van kuikenvlees uit Nederlandse vleeskuikenslachterijen is een convenant gesloten tussen de Vereniging van de Nederlandse Pluimveeverwerkende Industrie (NEPLUVI) en de minister van Volksgezondheid, Welzijn en Sport (VWS). In dit convenant is afgesproken om vanaf 2009 gedurende twee jaren alle vleeskuikenslachterijen in Nederland te bemonsteren.

In dit rapport onderzoeken wij of we het risico voor de volksgezondheid kunnen kwantificeren met behulp van een bestaand risicobeoordelingsmodel, wat we koppelen aan de data verkregen uit het convenant. Een belangrijk onderdeel hiervan is het expliciet meenemen van het tijdsverloop van het risico, en de mogelijkheid tot vergelijken tussen verschillende slachthuizen.

Verdere informatie over de bemonstering en de uiteindelijk gegenereerde data is te vinden in Sectie 2.

In Sectie 3 zal een analyse van de data gepresenteerd worden. De methode van presenteren zal de methode zoals gehanteerd in de tussenrapportage van Nepluvi (Anonymous 2011) nauw volgen. In Sectie 4 wordt een aanvullende aanpak gepresenteerd, gericht op risicobeoordeling. De gemeten besmettingsniveaus zullen worden gebruikt in een risicomodel, teneinde te komen tot een schatting van de humane ziektelast.

De techniek 'Fourier-transformatie' zal worden toegepast om meer inzicht te verkrijgen in (seizoens)variatie. De resultaten van deze analyse komen aan bod in Sectie 5.

In sectie 6 wordt een verkennende statistische analyse uitgevoerd op de data. Gekeken wordt of er statistische associatie is tussen diverse factoren. Deze analyse kan dienen als basis voor een latere uitgebreidere regressie-analyse. We besluiten in Sectie 7 met onze conclusies en een discussie van de resultaten.

## 2 Convenant data

Er is in eerste instantie bemonsterd op 17 slachterijen. Slachterij nummer 5 is gedurende 2009 gestopt met zijn activiteiten en wordt hier verder niet geanalyseerd. Per week worden monsters uit drie koppels genomen waarbij per koppel 25g vel van karkassen na koeling en 25g filet genomen is. Deze rapportage maakt gebruik van de data over 2009 en 2010.

De kwantificatie in het laboratorium vindt plaats aan de hand van tellingen van een verdunningsreeks. Ook wordt een bevestigingsfactor bepaald, om te corrigeren voor mogelijke misklassificatie van de organismen. De uiteindelijke rapportage van de telbare aantallen is in termen van kve/g<sup>1</sup>.

Wanneer de aantallen niet telbaar zijn, hetzij door te veel of te weinig cellen, worden de resultaten 'gecensureerd'. Wanneer op alle platen minder dan 10 kolonies worden geteld, dan wordt '<1' genoteerd voor filet en '<10' voor vel. Echter, het omgekeerde komt ook voor. Wanneer platen overgroeid zijn, vinden we diverse aanduidingen: '>1', '>1500', '>3000', '>50.000'. De theoretisch verkrijgbare getallen (uit de formule) bij tellen tussen de voorgeschreven 1 en 150 organismen per plaat liggen tussen 0.5 en 15.000 kve/g voor filet, en tussen 5 en 150.000 kve/g voor filet. Het is dus niet geheel duidelijk hoe de gerapporteerde bovengrenzen tot stand zijn gekomen. Deze afwijkende gevallen zijn een uitzondering, en komen slechts ongeveer 10 keer voor op een dataset van bijna 10.000 monsters.

In de huidige analyse hebben we alle getallen die met een ondergrens gecensureerd zijn '< X' geteld als nul. Alle getallen die met een bovengrens gecensureerd zijn '> X' hebben we meegeteld met als waarde de bovengrens X. Dezelfde methodiek is gevolgd in de eerdere Nepluvi rapportage.

<sup>1</sup> 'kve' staat voor 'kolonie vormende eenheden', er worden dus enkel levensvatbare organismen geteld.

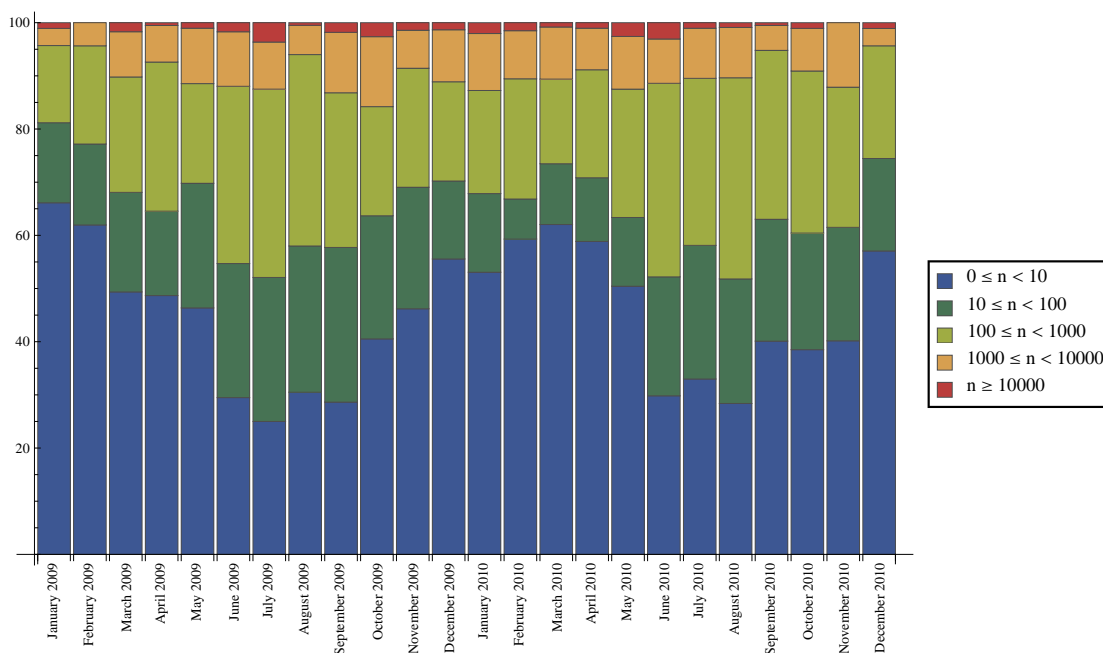


### 3 Data analyse

In deze sectie presenteren we de data op verschillende manieren, om inzicht te krijgen in de tijdsontwikkeling van besmetting, en de verdeling van de besmettingsniveaus over de slachthuizen.

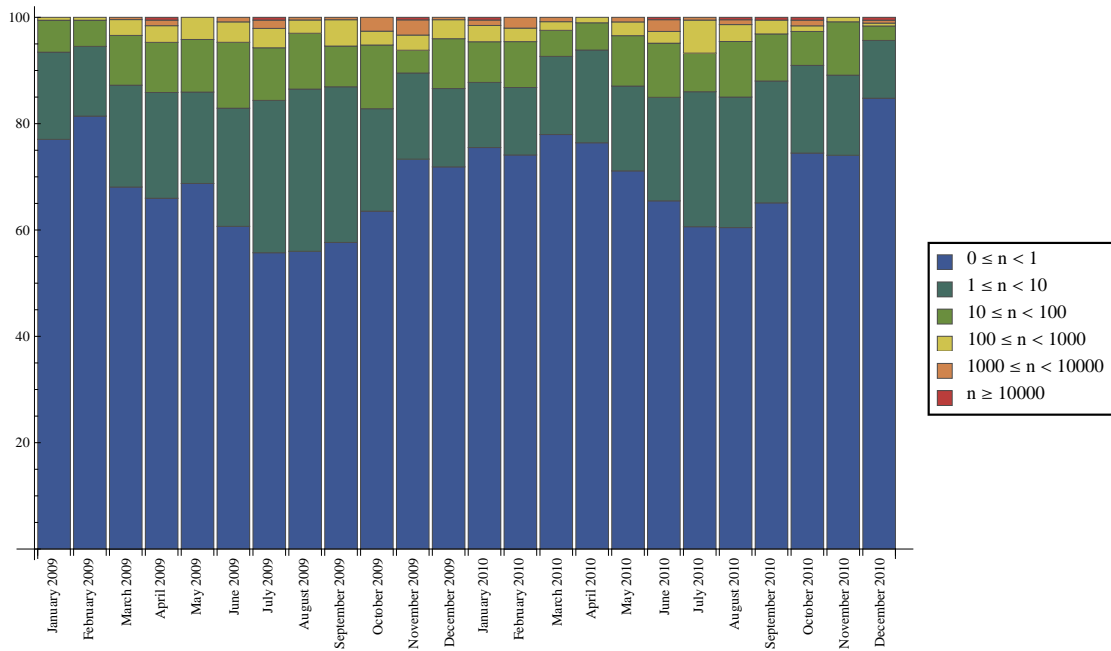
In Figuur 1 is de ontwikkeling van de besmettingsniveaus van januari 2009 tot en met december 2010 weergegeven voor borstvel. Alle slachthuizen zijn bij elkaar opgeteld per maand, en de besmettingsniveaus zijn verdeeld in vijf categorieën. Voor iedere maand zijn de aantallen genormaliseerd op 100%, zodat de grootte van de categorie te interpreteren valt als de procentuele bijdrage van die categorie op het totaal. We volgen hier de presentatie als in (Anonymous 2011).

Vooraf in de lagere categorieën lijken seizoenseffecten zichtbaar te zijn, met hogere bijdragen van deze categorie in de wintermaanden en lagere bijdragen in de zomermaanden. De seizoensvariatie lijkt minder prominent aanwezig in de hogere categorieën.



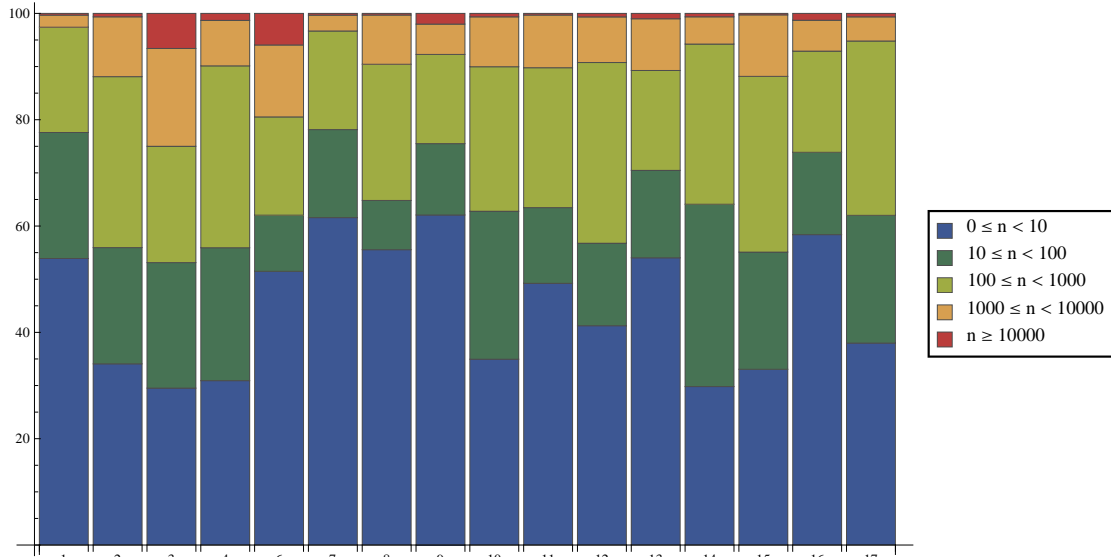
Figuur 1 Procentuele verdeling van het besmettingsniveau van borstvel per maand (kve/g) in vijf categorieën.

Figuur 2 geeft dezelfde informatie voor filet in plaats van borstvel. Besmettingsniveaus zijn ongeveer een factor 10 lager.

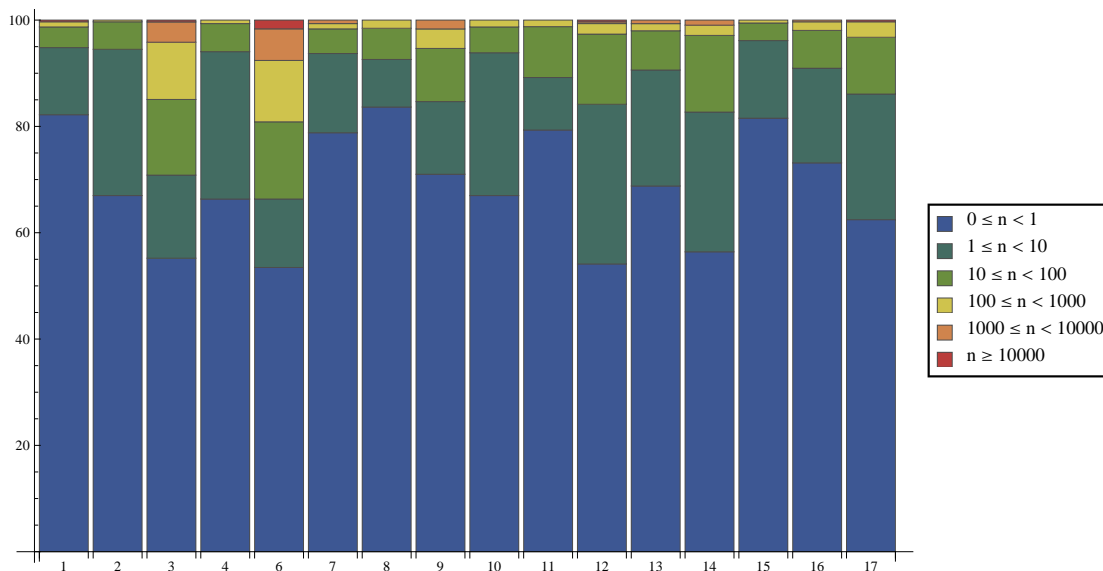


Figuur 2. Procentuele verdeling van het besmettingsniveau van filet per maand(kve/g) in zes categorieën.

We vervolgen de presentatie met de data uitgesplitst per slachthuis. De figuren 3 en 4 geven voor ieder slachthuis de verdeling van de besmettingsniveaus over de slachthuizen, in procentuele zin.



Figuur 3. Procentuele verdeling van de aantallen Campylobacter op borstvel in vijf categorieën, uitgesplitst per slachthuis.



*Figuur 4. Procentuele verdeling van de aantallen Campylobacter op filet in zes categorieën, uitgesplitst per slachthuis.*

Deze manieren van presenteren leidt niet altijd tot een eenvoudige interpretatie. Hoewel het bekend is dat het risico vooral bepaald wordt door de hoge aantallen, is dat natuurlijk niet de enige mogelijke maat. Ook is de vraag wat precies bedoeld wordt met 'hoog', de indeling van de categorieën is uiteindelijk arbitrair. Als antwoord op deze bezwaren presenteren wij in de volgende sectie een aanpak waarbij de besmettingsgraad wordt omgerekend in de kans op ziekte bij consumptie van een portie.

Het voordeel van deze aanpak is dat er geen categorisering meer nodig is. De verdeling van de Campylobacter niveaus wordt omgerekend naar het risico; uitgedrukt in een eenheid die direct te interpreteren is: de kans op ziekte bij consumptie van een portie. Merk op dat we zullen werken met relatieve kansen, aangezien absolute uitkomsten van risicomodellen behept zijn met meer onzekerheid dan relatieve uitspraken.

## 4 Risk-assessment aanpak

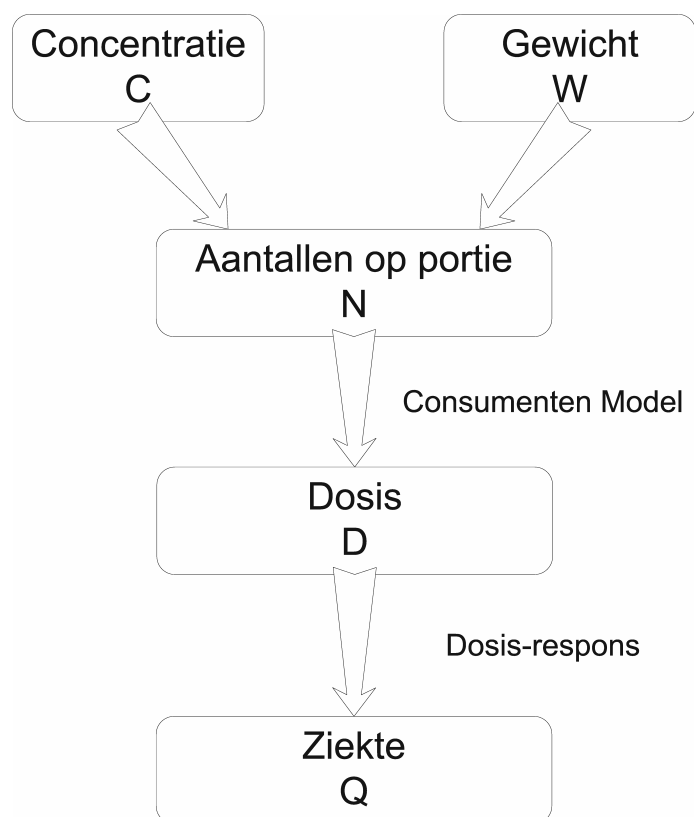
### 4.1 Overzicht

In deze sectie beschrijven we de aanpak zoals beschreven in (Nauta and Christensen 2011), welke ons in staat stelt om gemeten concentraties om te rekenen naar humane ziektelast. Het idee is dat de gemeten besmettingsniveaus aan het einde van de slachtlijn minder direct een maat zijn voor het risico als de kans op ziekte per portie. Een belangrijk aspecten van het model is de bereiding door de consument, waarbij kruisbesmetting plaatsvindt naar een onverhit te bereiden product (maar wel wordt aangenomen dat het kippenvlees voldoende verhit wordt). Daarnaast is er ook de dosis-respons relatie die de kans op ziekte geeft afhankelijk van de ingenomen dosis *Campylobacter*, welke sterk niet-lineair is.

Figuur 5 geeft een schematisch overzicht van de stappen die genomen worden in dit model. Allereerst worden concentraties (zoals verkregen uit het covenant) en gewichten van porties (geschat) gecombineerd om tot een aantal *Campylobacter* per portie te komen. Een portie is daarbij gedefinieerd als de hoeveelheid kuikenvlees die in één maaltijd wordt gebruikt. We gaan er voor het gemak van uit dat er geen maaltijden voor meerdere personen worden bereid. Vervolgens wordt een consumentenmodel gebruikt om te berekenen aan hoeveel van deze organismen een individu daadwerkelijk wordt blootgesteld. De route van ingestie is kruiscontaminatie naar een bijgerecht wat niet verhit wordt, zoals bijvoorbeeld een salade. De laatste stap in Figuur 5 is het dosis-respons model, wat de dosis vertaalt naar een kans op ziekte. Deze kans op ziekte is de grootte die in de volgende sectie gepresenteerd wordt als risicomaat.

In feite is dit een generiek risk assessment framework, waarbinnen diverse modellen geplaatst kunnen worden, bijvoorbeeld het Nederlandse CARMA model.

Het vervolg van deze sectie (4.2 en 4.3) is technisch van aard, de lezer kan eventueel de technische details overslaan, en vervolgen met Sectie 5.



Figuur 5. Schematisch overzicht van het Nauta-Christensen model.

#### 4.2 Modelbeschrijving

Het model begint met een concentratie en gewicht van filet. Variatie in zowel de concentratie als het gewicht worden beschreven met behulp van verdelingen. De concentraties zullen worden afgeleid uit de data voortvloeiend uit het convenant. We hebben

Concentratie:  $C$  [kve/g],  $C \sim$  Empirisch uit convenant data.  
 Gewicht portie:  $W$  [g],  $W \sim \text{LogNormal}(189, 127, 1000)$ .

De gewichtverdeling van de porties is afgeleid uit Deense data (Christensen, Sommer et al. 2001). De gemiddelde portiegrootte is 189 gram. Het derde argument van de lognormale verdeling is niet standaard, wij gebruiken het om aan te geven dat we een maximum van 1000g voorschrijven. In dit rapport zullen we altijd hoofdletters gebruiken om aan te geven dat we met random variabelen van doen hebben.

Om te komen tot een aantal kve per portie kan  $C$  met  $W$  vermenigvuldigd worden en het resultaat afgerond. Nauta en Christensen kiezer er echter voor om een Poisson verdeling te gebruiken,

$$N \sim \text{Poisson}(CW). \quad (1)$$

Dit is te interpreteren als het monsteren van  $W$  gram materiaal uit een grote pool met een homogene besmetting van  $C$  kve/g. Het blijkt dat er praktisch geen verschil is tussen  $N = |CW|$  en bovenstaande formule met de huidige  $C$  en  $W$ . De Poisson verdeling is mathematisch aantrekkelijker om mee te werken, vergeleken met afronding en we zullen (1) gebruiken.

De consumentenfase is te beschouwen als de stap tussen N (het aantal kve op een portie) en de dosis D (het aantal kve wat een individu binnenkrijgt via kruisbesmetting en ingestie). Deze verhouding is probabilistisch en kan opgeschreven worden als

$$P(D = d) = \sum_{k=0}^{\infty} P(D = d | N = k)P(N = k) \quad (2)$$

De term  $P(D=d | N=k)$  is te beschouwen als de resultante van de consumentenfase. Nauta en Christensen beschrijven de consumentenfase met behulp van een binomiaalverdeling,

$$P(D = d | N = k) = \binom{k}{d} P^d (1 - P)^{k-d} \quad (3)$$

Het idee is dat ieder organisme een kans P heeft om (via kruisbesmetting) bij te dragen aan de dosis.

In Nauta en Christensen worden diverse modellen besproken, die verschillen in hun beschrijving van P in termen van verdelingen. In dit onderzoek zullen we gebruik maken van een op Nederlandse gegevens gebaseerde verdeling (Nauta, Fischer et al. 2008), waarin,

$$P \sim \text{Empirical}(10^X)$$

$$X = \{2.24, 2.36, 2.37, 2.58, 2.82, 2.86, 3.16, 3.17, 3.47, 3.52, 3.57, 3.83, 3.83, 3.84, 3.87, 3.89, 3.89, 3.90, 3.94, 4.03, 4.09, 4.42, 4.53, 4.54, 4.54, 4.62, 4.62, 4.68, 4.73, 4.76, 4.84, 4.92, 4.93, 4.95, 4.97, 5.20, 5.25, 5.27, 5.39, 5.47, 5.60, 5.83, 5.89, 5.95, 5.96, 6.02, 6.23, 6.38, 6.96, 7.37, 7.90, 8.20, 9.00, 9.00, 9.00\}.$$

De gebruikte empirische verdeling is afgeleid uit observationele studies naar kruisbesmetting.

De dosis respons relatie, dat wil in dit geval zeggen de kans op ziekte  $p_{ill}$  afhankelijk van de discrete dosis  $d$ , per persoon, is het beta-binomiaal model,

$$p_{ill}(d) = \frac{1}{3} \left( 1 - \frac{\Gamma(\alpha + \beta)\Gamma(\beta + d)}{\Gamma(\beta)\Gamma(\alpha + \beta + d)} \right) \quad (4)$$

met parameters  $\alpha=0.145$  en  $\beta=7.59$ .

Er is nog één subtiliteit in vergelijking (1). Wanneer de concentratie nul is, is de Poisson verdeling ongedefinieerd. We lossen dit op door vergelijkingen (1) tot (4) over te slaan en direct een  $p_{ill}(0)=0$  te gebruiken.

Uiteindelijk zijn we geïnteresseerd in de verwachte kans op ziekte, bij een stochastische dosis  $D$ , namelijk  $E(p_{ill}(D))$ . Het berekenen van deze verwachtingswaarde in gesloten vorm (analytisch) is te complex. We zullen daarom een benaderende Monte Carlo procedure gebruiken (Vose 2008). Het

resultaat is een algoritme wat werkt met trekkingen uit verdelingen, om zo te komen tot een benadering van de verwachtingswaarde,

```

Draw  $W_0, \dots, W_N$ 
Generate  $C_0, \dots, C_N$ 
Draw  $Y_0, \dots, Y_N$  from Poisson ( $W_j Z_j$ )
Draw  $P_0, \dots, P_N$  from the distribution for P
Draw  $X_0, \dots, X_N$  from Binomial ( $Y_j, P_j$ )
Apply pill(.) to each  $X_j$  and average

```

Het getal  $N$  staat voor het aantal trekkingen wat gebruikt wordt in de benadering. Hoe hoger  $N$ , hoe beter de benadering. In onze simulaties is gewerkt met  $N = 10.000$  iteraties, waarbij de resultaten stabiel bleven (dat wil zeggen, bij verhoging van  $N$  was geen significante verandering in kans op ziekte). Bovenstaand algoritme is geïmplementeerd in Matlab v2011b (The Mathworks, Natick, Massachusetts, U.S.A). Ter validatie zijn de resultaten voor het Nauta consumentenfase model succesvol gereproduceerd.

### 4.3 Inbreng van de data in het consumentenmodel

Het algoritme beschreven in de vorige sectie heeft als groot voordeel dat slechts samples voor de concentratie nodig zijn ( $C_0, \dots, C_N$ ), en niet de hele (onbekende) verdeling. Echter, het algoritme is wel statisch, dat wil zeggen, dat tijd geen expliciet onderdeel is van het model. Voor iedere concentratie  $C_j$  is bekend wat de bijbehorende datum van monstername was. We kunnen dus een tijdstip  $t_j$  definieëren, het aantal dagen sinds de eerste monstername datum. Onze aanpak is nu om een schuivend interval in de tijd te nemen, met het  $j$ -de interval gelijk aan

$$I(j; a, b) = a \times j + [0, b].$$

Bijvoorbeeld, met  $a=b=4$  is het interval  $I(j; 0, 4) = 4j + [0, 4]$ . De eerste paar intervallen zijn  $[0, 4]$ ,  $[4, 8]$ ,  $[8, 12]$ . Dit is dus een interval van 4 dagen, wat telkens 4 dagen verspringt. Een andere optie zou zijn,  $a=1$ ,  $b=7$ , dus het interval  $I(j; 1, 7) = j + [0, 7]$ , met als eerste paar intervallen  $[0, 7]$ ,  $[1, 8]$ ,  $[2, 9]$ . Dit is een interval van een week, wat per dag verschuift.

Kies een interval type (dus kies een  $a$  en een  $b$ ). Laat nu de index  $j$  door de tijd te lopen en bekijk vervolgens welke  $t_j$  in dit interval  $I(j; a, b)$  vallen. De bijbehorende  $C_j$  worden als invoer aan het algoritme gepresenteerd en de bijbehorende gemiddelde kans op ziekte wordt berekend. Op deze manier verkrijgen we een tijdreeks van verwachte kansen op ziekte. In algoritmevorm,

```

Let M be the number of sampling days
Choose an interval type  $I(j; a, b)$ 
Let j run from 0 to M
    Determine all the  $t_j$  in  $I(j; a, b)$ 
    Take the corresponding  $C_j$ 
    Feed these concentrations to the algorithm
    Record the expected probability of illness  $E_j$ 

```

De zodanig verkregen  $E_j$  zijn een indicator voor het volksgezondheidsrisico op tijdstip  $a_j + [0, b/2]$  (we nemen het midden van het interval als representatief tijdstip binnen het interval).

#### **4.4 Fourier analyse**

We zullen de gegenereerde tijdreeksen ook onderwerpen aan een Fourier analyse. Dit is een techniek waarbij signalen worden uitgesplitst naar oscillerende componenten. Bijvoorbeeld, wanneer er een jaarlijkse schommeling in het signaal bestaat, dan zal de Fourier analyse deze detecteren en aangeven in welke mate deze component het signaal bepaalt. Componenten kunnen ook verwijderd worden uit het signaal. Zo kan bijvoorbeeld gekeken worden hoe de Campylobacter besmettingsniveaus er uit zien wanneer de jaarlijkse seizoensinvloed er uit gefilterd wordt.

Een andere interessante optie is om componenten met een hoge frequentie te verwijderen. Deze representeren snel variërende signalen, die ruis kunnen voorstellen, of incidentele gebeurtenissen, of meetonzekerheid. Wat over blijft kan dan beschouwd worden als 'robuust' signaal wat meer de kenmerken van de slachterij beschrijft, en niet zozeer de incidentele variatie.



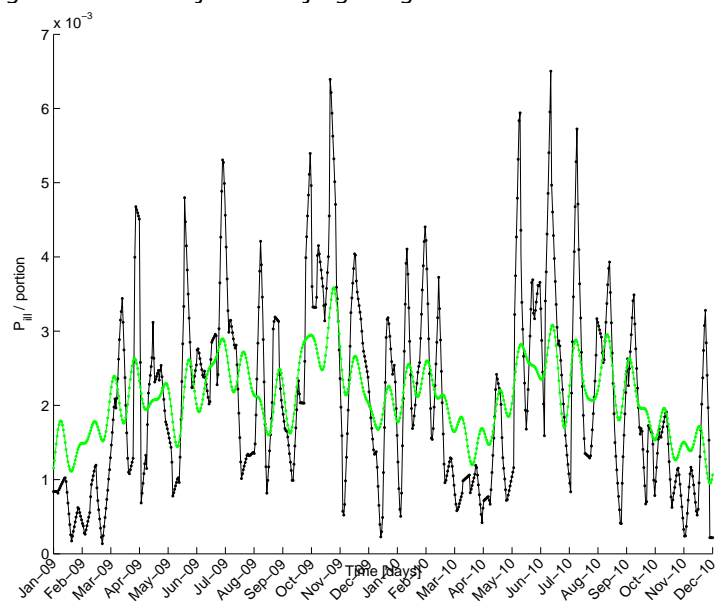
## 5 Resultaten van het consumentenmodel

Figuur 6 geeft het absolute risico bij het consumeren van een portie kipfilet, en de ontwikkeling door de tijd. Een trend is lastig te onderscheiden. Hoewel het lijkt alsof er een opwaardse trend is in 2009, en een neerwaardse trend in 2010, kan dit ook veroorzaakt zijn door seizoensvariatie.

We kunnen dit testen door te kijken naar de meest bijdragende Fouriercomponenten. In dit geval vinden we als periodes (in dagen) in aflopende volgorde van sterkte:

365.00, 243.33, 730.00, 104.29, 121.67, 30.42, 20.28, 33.18, 27.04.

De jaarlijkse trend is dus overheersend, daarna volgen periodes van  $\frac{3}{4}$  jaar en 2 jaar. Voor de jaarlijkse trend is een verklaring: we zien hier seizoenseffecten. De groene curve in Figuur 6 geeft het signaal weer na reconstructie met deze 10 meest bijdragende componenten. De pieken worden niet goed gerepresenteerd, maar de algemene trend lijkt redelijk gevolgd te worden.



Figuur 6. Tijdsverloop van de kans op ziekte per portie kipfilet, voor alle slachthuizen gecombineerd (zwarte curve). De groene curve geeft de eerste 10 Fourier componenten.

We vervolgen met de resultaten voor de individuele slachthuizen, weergegeven in de panelen van Figuur 7. De gegeven waarden zijn relatief ten opzichte van het gemiddelde risico als weergegeven in Figuur 6. Dus, waarden  $1/x$  beneden de één geven aan dat het bemettingsniveau van het slachthuis heeft geleid tot  $x$  keer minder kans op ziekte dan gemiddeld. Waarden  $x$  boven de één geven aan dat er  $x$  keer zo veel kans op ziekte resulteerde als het gemiddelde.

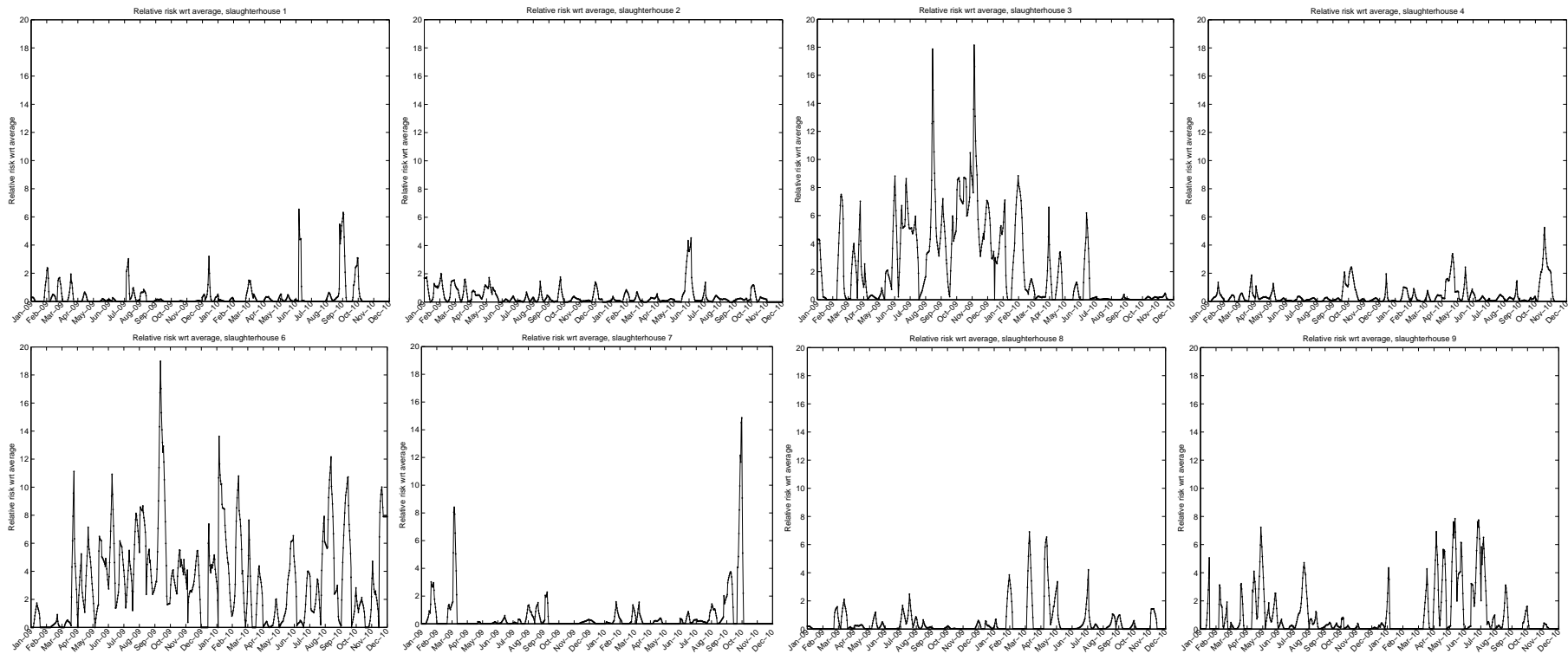
Er zijn een aantal interessante observaties te maken aan de hand van deze grafieken. Ten eerste is al te zien aan het verschil in de schaling van de y-assen dat bepaalde slachthuizen zich onderscheiden. Om dit meer te kwantificeren middelen we de relatieve risico's over de 2 jaar en verkrijgen de volgende tabel.

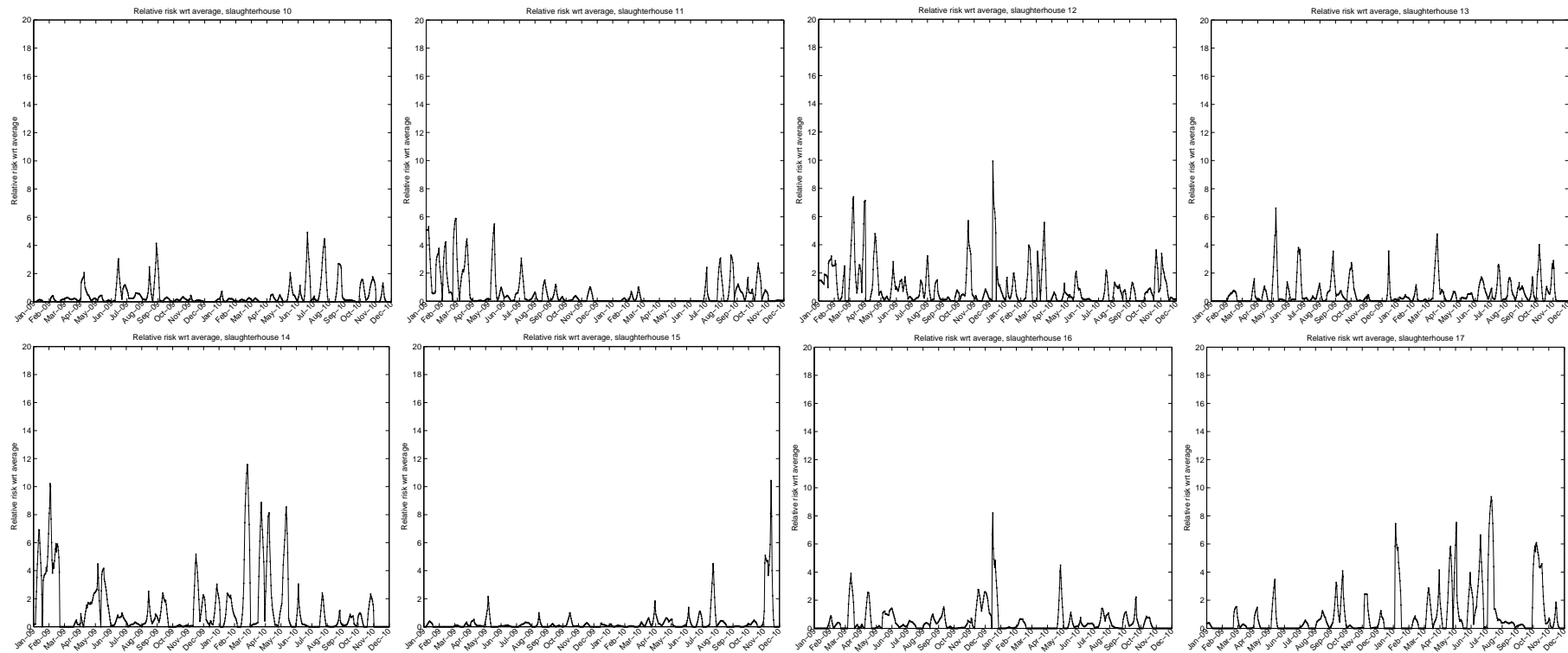
*Tabel 1. Relatieve verhoging van de kans op ziekte per slachthuis, vergeleken met het gemiddelde.*

<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>
0.34	0.39	2.41	0.42	3.47	0.52	0.45	0.98
<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>
0.45	0.63	0.98	0.57	1.35	0.32	0.51	0.96

Slachthuis 3 en 6 vallen op door hoge waarden (dit was reeds geconstateerd in (Anonymous 2011)). Nummer 9 en 12 presteren ongeveer gemiddeld, 14 iets hoger, terwijl de overigen ruim onder het gemiddelde zitten.

Wat ook duidelijk te zien is aan de hand van deze grafieken is wanneer periodes van hoog risico plaatsvinden. Zo is te zien dat slachthuis 6 een vrij constant hoog risico heeft, terwijl slachthuis 11 vanaf juli 2010 enkele maanden een verhoogd risico laat zien, terwijl de vier maanden daarvoor het risico praktisch nul was.





Figuur 7 De ontwikkeling van het relatieve risico door de tijd, voor ieder individueel slachthuis. Het risico is vergeleken met het gemiddelde risico.

## 6 Statistische analyse

In dit hoofdstuk bespreken we enkele resultaten van statistische toetsen toegepast op de convenant data. We gebruiken voornamelijk de Chi-kwadraat toets, maar ook Fishers exacte toets (nodig wanneer er sprake is van lage aantallen in categorieën).

We kunnen bijvoorbeeld, puur ter illustratie, niet omdat het relevant is, kijken of er een associatie is tussen houderij en laboratorium. De volgende tabel geeft de proportie bij ieder slachthuis (1 tot 17) die hoort bij een lab (A tot E). De kolommen bij een rij tellen altijd op tot één, maar dat kan soms niet zo lijken te zijn omdat de getallen afgerond zijn op twee decimalen. In onderstaande tabel zien we dat eigenlijk iedere slachterij wordt geanalyseerd door precies 1 laboratorium, behalve slachterij 6 welke in 3% van de gevallen door lab D wordt geanalyseerd.

*Tabel 2. Voorbeeld van een kruistabel met proporties: in de rijen de geanonimiseerde slachthuizen, in de kolommen de geanonimiseerde laboratoria.*

	A	B	C	D	E
1	0	1	0	0	0
2	1	0	0	0	0
3	1	0	0	0	0
4	0	0	0	1	0
6	0	0	0.97	0.026	0
7	0	1	0	0	0
8	0	0	0	0	1
9	0	1	0	0	0
10	0	0	0	1	0
11	0	0	0	0	1
12	0	0	0	1	0
13	0	0	0	1	0
14	0	1	0	0	0
15	0	0	0	1	0
16	0	0	0	1	0
17	0	0	0	1	0

Met behulp van de p-waarde uit de Chi-kwadraat toets meten we of de proporties in zulke kruistabellen toevallig zijn, of een structureel effect. In dit illustratieve voorbeeld is de p-waarde  $p < 0.05$ , zodat we kunnen stellen dat het effect structureel is. Met grote zekerheid kunnen we dus stellen dat ieder lab hoort bij precies houderij (met een incidentele uitzondering voor houderij 6).

Een interessantere test is de relatie tussen besmetting op vel en filet. De volgende tabel geeft de proporties.

Tabel 3. Kruistabel met de aantallen *Campylobacter* (kve/g) op vel uitgezet tegen de aantallen op filet.

		Filet				
		N<1	1≤N<10	10≤N<100	100≤N<1000	N≥10.000
Vel	<10	0.94	0.04	0.01	0.00	0.00
	10≤N<100	0.68	0.27	0.04	0.01	0.00
	100≤N<1000	0.43	0.37	0.17	0.03	0.00
	1000≤N<10.000	0.24	0.28	0.29	0.15	0.00
	N≥10.000	0.10	0.07	0.13	0.26	0.07

Het lijkt erop dat vel structureel hoger besmet is, met minstens een factor 10. Dit is te zien aan de hoge getallen onder de diagonaal. De p-waarde is weer erg klein, en de correlatie tussen vel en filet is dus structureel.

We vervolgen met een analyse van de relatie tussen de slachttijd en de besmettingsgraad op vel. Het blijkt dat vrijwel alle monsters tussen 6:00 en 18:00 uur genomen zijn en we beschouwen alleen categorieën tussen deze tijdstippen. De volgende tabel geeft de resultaten.

Tabel 4. Kruistabel met de aantallen *Campylobacter* (kve/g) op vel, uitgezet tegen het tijdstip van monstername.

		Vel				
		N<10	10≤N<100	100≤N<1000	1000≤N<10.000	N≥10.000
Tijd	6:00-8:00	0.49	0.19	0.24	0.07	0.01
	8:00-10:00	0.43	0.20	0.27	0.09	0.00
	10:00-12:00	0.45	0.20	0.27	0.07	0.01
	12:00-14:00	0.43	0.18	0.27	0.10	0.02
	14:00-16:00	0.44	0.21	0.19	0.13	0.02
	16:00-18:00	0.37	0.20	0.31	0.08	0.04

Interessant genoeg lijken de lage besmettingsniveaus (tot 1000 kve/g) redelijk constant te zijn over de dag. De proporties in de categorieën 1000≤N<10.000 en N≥10.000 lijken licht stijgend gedurende de dag. Tabel 5 geeft dezelfde analyse voor filet. Hier lijkt de laatste categorie langzaam af te nemen, terwijl de categorieën vanaf 1≤N<10 langzaam toenemen. Ook de correlaties in deze tabel zijn weer zeer significant.

Tabel 5. Proporties van besmettingsgraad van filet, uitgezet tegen het tijdstip van monstername.

		Filet					
		N<1	1≤N<10	10≤N<100	100≤N<1000	1000≤N<10.000	N≥10.000
Tijd	6:00-8:00	0.74	0.17	0.07	0.02	0.00	0.00
	8:00-10:00	0.71	0.18	0.09	0.02	0.00	0.00
	10:00-12:00	0.67	0.20	0.09	0.03	0.01	0.00
	12:00-14:00	0.65	0.22	0.08	0.04	0.02	0.00
	14:00-16:00	0.66	0.20	0.08	0.04	0.02	0.00
	16:00-18:00	0.63	0.22	0.09	0.04	0.02	0.00

## 7 Conclusies en discussie

Het is bekend dat de hogere aantallen *Campylobacter* in grote mate bijdragen aan het risico. De grafieken zoals gepresenteerd in Sectie 3, en eerder in (Anonymous 2011), laten zien hoe de verdeling van de aantallen over categorieën is. Echter, de begrenzings van de categorieën zijn arbitrair, en het zijn ook niet enkel de hoogste aantallen die het risico bepalen.

Om de vraag "wat is het risico voor de mens" explicieter te beantwoorden is in dit rapport de data voortvloeiende uit het convenant gekoppeld aan een consumentenmodel. Het resultaat is een kans op ziekte bij consumptie van een portie kipfilet. In Sectie 5 zijn de resultaten gepresenteerd. Wij vinden dezelfde slachthuizen met verhoogd risico als ook gevonden waren in (Anonymous 2011). We concluderen dat de analyse met behulp van het risicomodel behulpzaam is in het beoordelen van het risico in termen van volksgezondheid. Verder blijkt dat het relatieve risico van slachthuizen goed door de tijd te volgen is. Dit opent wellicht perspectieven voor een meer actieve monitoring van slachthuizen. Seizoensvariatie is ook waargenomen. In Sectie 3 was deze vooral te zien in de lage aantallen. In Sectie 5 is met behulp van Fouriertransformatie bevestigd dat deze variatie aanwezig is in het signaal.

Er is een eerste statistische analyse gemaakt van de data, waaruit bleek dat de besmettingsniveaus significant afhangen van het tijdstip op de dag. Vooral de hogere categorieën van besmetting nemen gedurende de dag toe. De lagere categorieën blijven redelijk constant.

Een mogelijkheid is dat we het effect zien van kruisbesmetting, die meer bijdraagt naarmate de dag vordert omdat de slachtapparatuur meer besmet raakt. Deze verklaring lijkt niet bevredigend omdat kruisbesmetting vooral geassocieerd wordt met lagere aantallen organismen. Logistische slacht kan niet de verklaring voor het fenomeen zijn, voor *Campylobacter* vindt dit niet plaats. De huidige statistische analyse is slechts een begin van wat mogelijk is. In het vervolgonderzoek zullen we verdere analyses toepassen. We willen onder andere logistische regressie toepassen om de significante verbanden tussen factoren ook kwantitatief te beschrijven.

### 7.1 Vervolgonderzoek

Om te komen tot adequate maatregelen en meer inzicht in bestrijdingsmogelijkheden van *Campylobacter* is een tweede convenant opgesteld tussen VWS en de NEPLUVI. NEPLUVI zal de data van het eerste convenant in 2011 aan het RIVM ter beschikking stellen. Belangrijke vragen zijn,

- wat is het ingeschatte volksgezondheidsrisico t.g.v. de gevonden besmettingsniveaus op vlees in vergelijking met de huidige risicoschatting?
- zijn er, op basis van de monitoringsresultaten, factoren aan te wijzen, die invloed hebben op de hoogte van de karkasbesmettingen en dus aangrijpingspunten bieden voor nadere interventies?

Aan de Universiteit Utrecht wordt een promotieonderzoek uitgevoerd in samenwerking met een leverancier van pluimveeslachtapparatuur om het hygiënisch ontwerp van deze apparatuur te verbeteren. Het RIVM zal deelnemen aan de wetenschappelijke begeleiding van dit promotieonderzoek.

In 2012 wordt in het kader van dit promotieonderzoek een baseline studie uitgevoerd in een slachthuis, met als doelstelling het herkennen en voor zover mogelijk verklaren van de variatie in besmetting van karkassen van vleeskuikens tijdens het slachten. De RIVM inbreng in het project is begeleiding van de PhD student en het ontwikkelen en implementeren van een methode om het CARMA risk assessment model te updaten met meetgegevens.

De combinatie van het risicomodel, statistische analyse en de inzichten verkregen uit het promotietraject zullen hopelijk leiden tot meer inzicht in de determinanten van de risico's op *Campylobacter* besmetting, en tot praktische interventiemogelijkheden in de productieketen van de pluimveesector.



## Literatuur

Anonymous (2011). *Eindrapportage Convenant Campylobacter aanpak pluimveevlees in Nederland*, NEPLUVI.

Christensen, B., H. Sommer, et al. (2001). *Risk Assessment of Campylobacter jejuni in Chicken Products*. Copenhagen, Danish Veterinary and Food Administration.

Havelaar, A. H., W. van Pelt, et al. (2009). *Immunity to Campylobacter: its role in risk assessment and epidemiology*, Crit Rev Microbiol 35(1): 1-22.

Nauta, M. and B. Christensen (2011). *The impact of consumer phase models in microbial risk analysis*, Risk Anal 31(2): 255-265.

Nauta, M. J., A. R. Fischer, et al. (2008). *Food safety in the domestic environment: the effect of consumer risk information on human disease risks* Risk Anal 28(1): 179-192.

Vose, D. (2008). *Risk Analysis: A Quantitative Guide*, Wiley.

Dit is een uitgave van:

**Rijksinstituut voor Volksgezondheid  
en Milieu**

Postbus 1 | 3720 BA Bilthoven  
[www.rivm.nl](http://www.rivm.nl)