



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

CPE afvalwatersurveillance bij een vleeskuikenslachterij

CPE afvalwatersurveillance bij een vleeskuikenslachterij

RIVM-briefrapport 2023-0398

Colofon

© RIVM 2023

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.

Het RIVM hecht veel waarde aan toegankelijkheid van zijn producten. Op dit moment is het echter nog niet mogelijk om dit document volledig toegankelijk aan te bieden. Als een onderdeel niet toegankelijk is, wordt dit vermeld. Zie ook www.rivm.nl/toegankelijkheid.

DOI 10.21945/RIVM-2023-0398

H. Blaak (auteur), RIVM
M.A. Kemper (auteur), RIVM
R. Schilperoort (auteur), Partners4UrbanWater
A.M. de Roda Husman (auteur), RIVM
H. Schmitt (auteur), RIVM

Contact:

Hetty Blaak
Centrum Infectieziektenbestrijding\Zoönosen en
Omgevingsmicrobiologie\Milieu
hetty.blaak@rivm.nl

Dit onderzoek werd verricht in opdracht van het ministerie van Volksgezondheid, Welzijn en Sport (VWS)

Dit is een uitgave van:
**Rijksinstituut voor Volksgezondheid
en Milieu**
Postbus 1 | 3720 BA Bilthoven
Nederland
www.rivm.nl

Publiekssamenvatting

CPE afvalwatersurveillance bij een vleeskuikenslachterij

Het RIVM heeft bij een slachterij van vleeskuikens onderzocht of er CPE (carbapenemase-producerende *Enterobacterales*) in het afvalwater zaten. Dit zijn bijzonder resistente bacteriën waartegen nog maar weinig soorten antibiotica werken. In het afvalwater zijn geen CPE gevonden. Dit betekent dat CPE niet bij de geslachte vleeskuikens voorkomen.

Deze resultaten zijn hetzelfde als de reguliere monitoring van CPE laat zien. Deze monitor onderzoekt darmmateriaal van vleeskuikens bij verschillende slachterijen. Op basis van de resultaten van de twee monitors concludeert het RIVM dat CPE niet bij Nederlandse vleeskuikens voorkomen, of maar heel weinig.

Via afvalwater kan van veel meer dieren tegelijk worden achterhaald of ze schadelijke bacteriën bij zich dragen. De reguliere monitoring van vleeskuikens onderzoekt dat bij individuele dieren van meer verschillende bedrijven. Het precieze voordeel van beide vormen is nu nog onduidelijk.

Voor dit onderzoek is het afvalwater van een slachterij tussen 6 september 2022 en 1 februari 2023 onderzocht op CPE. Dat gebeurde op 33 dagen, verspreid over 20 weken. Tijdens de metingen zijn in totaal 150.000 á 170.000 vleeskuikens geslacht van 103 verschillende bedrijven, waarvan ongeveer de helft Nederlands. In de gewone monitor worden voor vleeskuikens elk jaar darmmateriaal van 3000 dieren van ongeveer 300 verschillende Nederlandse bedrijven onderzocht.

Kernwoorden: CPE, antibioticaresistentie, Enterobacterales, afvalwater, surveillance, vleeskuiken, slachterij

Synopsis

CPE monitoring at a broiler processing plant

RIVM has investigated the presence of carbapenemase-producing *Enterobacterales* (CPE) in wastewater of a broiler processing plant. CPE are highly resistant bacteria against which few types of antibiotics are currently effective. No CPE were found in the wastewater. This means that no CPE were present in the processed broilers.

These results match those of regular national CPE monitoring in broilers. This monitoring investigates the intestinal material of broilers at multiple processing plants. Based on the outcomes of the two monitors, RIVM concludes that there are little to no CPE present in Dutch broilers.

Wastewater monitoring makes it possible to investigate the presence of harmful bacteria in many more animals at once. By contrast, regular broiler monitoring targets individual specimens from a greater number of broiler farms. The exact advantages of both methods are currently still unclear.

For this study, the wastewater of a single processing plant was investigated for the presence of CPE between 6 September 2022 and 1 February 2023. This was done on 33 days, spread out over 20 weeks. During the period the measurements were conducted, a total of 150,000–170,000 broilers were processed from 103 different farms, about half of which were located in the Netherlands. For the regular monitor, the intestinal material of 3,000 broilers from around 300 different Dutch farms is investigated each year.

Keywords: CPE, antibiotic resistance, Enterobacterales, wastewater, monitoring, broiler, processing plant

Inhoudsopgave

Samenvatting — 9

1 Inleiding — 11

1.1 Aanleiding — 11

1.2 Doel — 11

1.3 Aanpak — 11

1.4 Achtergrond — 11

1.4.1 Antibioticaresistentie bij landbouwhuisdieren — 11

1.4.2 Carbapenem-producerende Enterobacterales (CPE) — 12

1.4.3 Afvalwatersurveillance — 13

2 Materiaal en methoden — 15

2.1 Vleeskuikenslachterij — 15

2.1.1 Beschrijving van de afvalwaterstroom — 15

2.1.2 Monsternames — 16

2.2 Bacteriekweek — 16

3 Resultaten — 19

3.1 CPE in slachterijafvalwater — 19

3.2 *E. coli* concentraties — 19

4 Discussie — 21

5 Conclusies en aanbevelingen — 25

6 Dankwoord — 27

7 Referenties — 29

Bijlage. Monsternamedata — 33

Samenvatting

Achtergrond

De aanwezigheid van zeldzame vormen van antibioticaresistentie in een populatie, zoals carbapenemase-producerende *Enterobacterales* (CPE), is moeilijk aan te tonen door bij individuele mensen of dieren te meten. Immers, doordat weinig mensen of dieren dergelijke bacteriën bij zich dragen moeten heel veel individuen worden getest om een betrouwbaar beeld te krijgen. In een eerder uitgevoerd RIVM-onderzoek bleek analyse van afvalwater bij een varkens- en runderslachterij een veelbelovende screeningmethode voor CPE bij landbouwhuisdieren, in analogie met wat was gevonden voor huishoudelijk afvalwater. Door metingen in afvalwater kunnen grote aantallen dieren efficiënt worden gescreend op het vóórkomen van CPE. In het huidige onderzoek is afvalwater van een vleeskuikenslachterij onderzocht.

Doel van het onderzoek en aanpak

Om te bepalen of CPE bij Nederlandse vleeskuikens voorkomen, werden van september 2022 t/m januari 2023 metingen gedaan in het afvalwater van een vleeskuikenslachterij. Er is binnen de slachterij op twee locaties gemeten. Locatie A was een verzamelpunt van alle stadia van het slachtproces, maar bleek bij nader inzien ook humaan afvalwater te bevatten. Locatie B bevatte afvalwater van een deel van het slachtproces maar was wel specifiek vleeskuikenafvalwater.

Resultaten

In geen van de 21 slachterijafvalwatermonsters genomen op locatie B werd CPE aangetoond. Op locatie A werd in één van 15 monsters een niet-carbapenemase-producerende carbapenem-resistente *K. pneumoniae* aangetroffen. Gezien de monsterlocatie is het onbekend of deze bacterie uit een kip of via humaan afvalwater in het monster terecht was gekomen. Op beide locaties bevatte het afvalwater hoge concentraties *E. coli*. Deze hoge concentraties geven aan dat metingen in slachterijafvalwater in principe geschikt zijn om zeldzame resistente *E. coli* te kunnen aantonen.

Conclusie

In de uitgevoerde metingen in slachterijafvalwater werden geen CPE gevonden. Dit geeft aan dat CPE niet bij de onderzochte dieren voorkomen, tenminste niet op een detecteerbaar niveau. Dit bevestigt bevindingen van de reguliere nationale resistentie monitoring, dat bij landbouwhuisdieren CPE waarschijnlijk niet (of in zeer lage frequentie) bij Nederlandse vleeskuikens voorkomen. Omdat met slachterijafvalwatersurveillance veel dieren tegelijk gescreend kunnen worden, lijkt deze vorm van surveillance met name een goede aanvulling voor de monitoring van antibioticaresistente bacteriën die (nog) niet wijd verspreid zijn, en waar het screenen van meer dieren per koppel een grotere kans geeft op detectie. De selectie van de juiste locatie binnen een slachterij is daarbij essentieel zodat er geen verstoring is door humaan afvalwater.

1 Inleiding

1.1 Aanleiding

Tijdens surveillancestudies die jaarlijks worden uitgevoerd onder Nederlandse vleeskuikens zijn tot dusverre geen CPE aangetoond (MARAN, 2023). In deze screening worden jaarlijks 300 monsters getest, waarbij sinds 2021 elk monster bestaat uit het caecum-materiaal van 10 kuikens van één koppel. Een enkele uitzondering daargelaten wordt één poolmonster per koppel getest, en is elk koppel afkomstig van een ander bedrijf (K. Veldman, persoonlijke communicatie). Op jaarbasis worden dus 3000 vleeskuikens getest, afkomstig van ongeveer 300 verschillende koppels van ongeveer evenveel bedrijven.

De gescreende dieren vormen ongeveer 0,001% van alle geslachte Nederlandse vleeskuikens (5×10^8 in 2022 (CBS, 2023)), en 2% van het aantal Nederlandse vleeskuikenkoppels dat per jaar wordt geslacht (15.500 koppels in 2022 (NVWA, 2022)).

In analogie met metingen in huishoudelijk afvalwater zijn metingen in slachterijafvalwater mogelijk een manier om bij grotere aantallen dieren efficiënt te screenen of er CPE in vóórkomen. Dit is omdat tijdens het slachtproces fecaal materiaal in het afvalwater terecht komt, waar CPE in aanwezig kunnen zijn.

1.2 Doel

Het doel van het huidige onderzoek was om door middel van metingen in slachterijafvalwater te bepalen of CPE voorkomen bij Nederlands pluimvee.

1.3 Aanpak

Er werden bij één pluimveeslachterij afvalwatermonsters genomen en getest op de aanwezigheid van CPE. Behalve de aanwezigheid van CPE werden in dit water ook de aantallen *E. coli* bepaald om inzicht te hebben in de mate van fecale inhoud in het water.

In de slachterij worden per dag 150.000 a 170.000 vleeskuikens geslacht, afkomstig van gemiddeld 9 verschillende koppels. Het afvalwater wordt gedurende een hele slachtdag bemonsterd. Op alle meetdagen samen zijn in totaal $5,3 \times 10^6$ vleeskuikens geslacht, afkomstig van 298 koppels en ongeveer 103 verschillende vleeskuikenbedrijven, waarvan ongeveer de helft uit Nederland.

1.4 Achtergrond

1.4.1 *Antibioticaresistentie bij landbouwhuisdieren*

Tot 2010 werden in de veeteelt relatief grote hoeveelheden antibiotica gebruikt, met als gevolg een hoge prevalentie van antibioticaresistentie bij landbouwhuisdieren. Nadat in 2010 concrete doelen waren vastgesteld om het antibioticagebruik in de veehouderij te reduceren, is het antibioticagebruik in deze sector duidelijk afgenomen (MARAN, 2020). Parallel hieraan is ook de prevalentie van ABR bij deze dieren

afgenomen. Ter illustratie, de prevalentie van cefotaxime-resistentie bij *E. coli* (een vorm van resistentie karakteristiek voor ESBL- en AmpC-producerende bacteriën) is bij vleeskuikens afgenomen van 21% van alle *E. coli*-isolaten in 2007, tot minder dan 5% van alle *E. coli*-isolaten sinds 2013 (MARAN, 2023). Van 2019 t/m 2022 werden twee ESBL-producerende *E. coli* aangetroffen onder ongeveer 1200 *E. coli* (0,16%) afkomstig uit vleeskuikens (MARAN, 2023). Ondanks dat bij landbouwhuisdieren het percentage bacteriën wat resistent is sterk is afgenomen, is toch een aanzienlijk deel van landbouwhuisdieren nog steeds drager van ABR. Voor ESBL-EC was dit in 2022 16% van de geteste dieren: 16% van de melkkoeien, 8% van de varkens, 15% van de vleeskuikens, en 25% van de vleeskalveren (MARAN, 2023).

Gebruik van carbapenems bij dieren is in Nederland niet toegestaan. Desalniettemin zijn CPE eerder aangetoond bij landbouwhuisdieren in het buitenland, maar ook in het milieu (Guerra, Fischer en Helmuth, 2014; Kock *et al.*, 2018). Introductie van deze bacteriën in de Nederlandse veehouderij is daarom een reëel risico. Hoewel sinds 2015 meer dan 1000 landbouwhuisdieren jaarlijks worden gescreend met behulp van een gevoelige methode, zijn CPE nog niet aangetoond bij Nederlandse landbouwhuisdieren (MARAN, 2023).

1.4.2

Carbapenem-producerende Enterobacterales (CPE)

Carbapenems zijn zogenaamde "laatste redmiddel" antibiotica, wat wil zeggen: antibiotica die ingezet worden als alle andere antibiotica falen. Bacteriën die carbapenemases kunnen produceren zijn hierdoor resistent tegen (nagenoeg) alle leden van een groep van klinische zeer relevante antibiotica, de beta-lactam antibiotica, waaronder penicillinen, cefalosporinen en carbapenems. Daarnaast gaat resistentie tegen beta-lactam antibiotica ook vaak gepaard met resistentie tegen andere klassen van antibiotica. Dit maakt dat de mogelijkheden tot behandelen van infecties met CPE zeer beperkt zijn, uiteindelijk resulterend in verhoogde sterfte onder patiënten (Tzouvelekis *et al.*, 2014). CPE worden gezien als een van de grootste bacteriële resistentie bedreigingen voor de humane gezondheid van onze tijd (WHO, 2017).

Het kunnen produceren van carbapenemase-enzymen is een eigenschap van Gram-negatieve bacteriën, zoals *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* en *Enterobacterales*, en wordt meestal verworven via plasmiden (Canton *et al.*, 2012; Logan en Weinstein, 2017; Nordmann, Naas en Poirel, 2011; Patel en Bonomo, 2013). Onder *Enterobacterales* komt plasmide-geassocieerde carbapenemase-productie voornamelijk voor bij *E. coli* en *K. pneumoniae*. Er zijn verschillende types carbapenemases, waarvan de meest voorkomende de metallo beta-lactamase (NDM, IMP en VIM) en de serine beta-lactamases (KPC en OXA-48-achtige OXA-varianten) zijn (Canton *et al.*, 2012; Nordmann, Naas en Poirel, 2011). Naast carbapenemase-productie zijn er nog andere mechanismen die resistentie tegen carbapenems kunnen veroorzaken. Hier liggen meestal veranderingen (mutaties) in het chromosoom aan ten grondslag, bijvoorbeeld veranderingen die resulteren in veranderingen in zogenaamde "effluxpompen" in de membraan van de bacterie, waardoor deze het antibioticum sneller kan uitscheiden en het antibioticum minder schade veroorzaakt (Potter, D'Souza en Dantas, 2016). Dit zijn niet-

carbapenemase-producerende carbapenem-resistente *Enterobacterales* (non-NP-CRE).

CPE komen in de Nederlandse bevolking nog weinig voor. Ze worden vooral geassocieerd met ziekenhuisuitbraken en ziekenhuisopnames in het buitenland (Albiger *et al.*, 2015; Vlek *et al.*, 2016). Reizen naar het buitenland, met name Azië, is een risicofactor voor dragerschap van CPE (van Hattem *et al.*, 2016). Gezien infecties met CPE ernstige gevolgen kunnen hebben en het risico van overdracht tussen consumptiedieren en mensen, is het onwenselijk dat dit type resistentie verspreidt naar landbouwhuisdieren.

1.4.3 Afvalwatersurveillance

Ondanks het feit dat CPE met relatief lage frequentie worden gedetecteerd tijdens routinematige humane ABR surveillance, konden deze bacteriën in een eerder RIVM onderzoek wel regelmatig worden aangetoond in gemeentelijk afvalwater (Blaak *et al.*, 2021). Dit leidde tot verdere inzet van afvalwatermetingen voor het monitoren van de verspreiding van zeldzame ABR bacteriën in de Nederlandse bevolking in eerder RIVM onderzoek bij rioolwaterzuiveringsinstallaties (RWZI's) (Blaak *et al.*, 2022). *Enterobacterales* komen met menselijke uitwerpselen in het riool terecht. Hoewel er in het riool ook sprake kan zijn van contaminatie met uitwerpselen van dieren (zoals van honden, vogels, of ratten) zijn de uitwerpselen in rioolwater vooral afkomstig van mensen. Rioolwater is daarom geschikt als hulpmiddel om het voorkomen van pathogenen bij de bevolking vast te stellen. Het grote voordeel van afvalwatersurveillance is dat er geen individuen gescreend hoeven te worden (wat tijdrovend is en vrijwillige participatie vergt) en dat het de mogelijkheid biedt om grote populaties mensen te onderzoeken, waardoor ook mensen zonder ziekteverschijnselen of mensen die niet in risicogroepen vallen makkelijk kunnen worden onderzocht. Een bekend voorbeeld van het gebruik van afvalwater voor surveillance doeleinden stamt uit het mondiale programma voor eradicatie van het poliovirus (Asghar *et al.*, 2014; WHO, 2003). In 2020 is afvalwatersurveillance door het RIVM in opdracht van het ministerie van VWS ingezet als middel in de beheersing van de SARS-CoV-2 epidemie in Nederland.

Afvalwatersurveillance is ook gekenmerkt als een kosteneffectief middel om inzicht te krijgen in de eigenschappen en de verspreiding van antibioticaresistente bacteriën en resistentiegenen, zowel op een nationaal als mondiaal niveau (Aarestrup en Woolhouse, 2020; Hendriksen *et al.*, 2019; Huijbers, Larsson en Flach, 2020; Hutinel *et al.*, 2019; Kwak *et al.*, 2015; Munk *et al.*, 2022; Pärnänen *et al.*, 2019).

Ook voor surveillance van ABR bij dieren kan afvalwatersurveillance worden toegevoegd als middel om het voorkomen van zeldzame ABR vast te stellen. Dit werd bevestigd in een pilot-onderzoek dat is uitgevoerd bij een varkens- en een runderslachterij in 2019 (Blaak *et al.*, 2020). In die studie werden geen CPE aangetroffen, terwijl de typen ESBL-producerende *E. coli* in het slachterijafvalwater in grote lijnen overeenkwamen met wat dat jaar in MARAN werd gerapporteerd. Het huidige rapport beschrijft onderzoek naar de aanwezigheid van CPE in afvalwater bij een vleeskuikenslachterij, als aanvulling op het onderzoek van 2019.

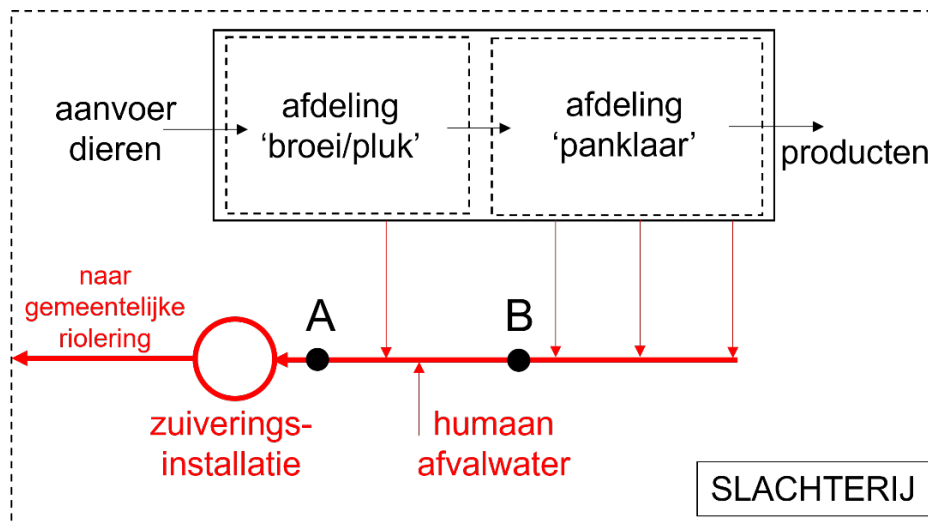
2 Materiaal en methoden

2.1 Vleeskuikenslachterij

In de onderzochte slachterij worden dagelijks 150.00 á 170.000 vleeskuikens geslacht. Op alle meetdagen samen zijn in totaal $5,3 \times 10^6$ vleeskuikens geslacht, afkomstig van 298 koppels van 163 vleeskuikenbedrijven, waaronder ongeveer¹ 103 verschillende. Ongeveer de helft van de koppels was afkomstig van Nederlandse bedrijven, de andere helft was afkomstig uit het buitenland.

2.1.1 Beschrijving van de afvalwaterstroom

De afvalwaterstroom van de pluimveeslachterij is op twee locaties bemonsterd, zie Figuur 2-1. Aanvankelijk werd bemonsterd bij locatie A. Op deze locatie passeert al het afvalwater van de slachterij voordat dit terecht komt bij de zuiveringsinstallatie op het terrein. Na de eerste monsternames bleek uit kleurstofproeven dat - onbedoeld - ook humaan afvalwater van de slachterij op hetzelfde rioolsysteem wordt geloosd, wat uit de bestaande informatie over terreinriolering van te voren niet eenduidig kon worden vastgesteld. Dit afvalwater was deels afkomstig van een omkleedruimte, met voorziening om handen te wassen en toiletten. Om beïnvloeding van de resultaten door het humane afvalwater te voorkomen is de monstername verplaatst naar bovenstroomse locatie B. Locatie B is representatief voor de slachtafvalwaterstroom van de afdeling 'panklaar' waar de kale karkassen worden ontdaan van darmen, worden gewassen en verwerkt tot producten. Per dag bedraagt deze afvalwaterstroom ongeveer 400-500 m³. Het afvalwater van de 'broei/pluk'-afdeling, waar de kippen worden gebroeid en geplukt (ca. 500 m³/dag) komt niet bij locatie B en maakt dus geen onderdeel uit van de monsters die genomen zijn op die locatie.



Figuur 2-1 Schematisch overzicht van de vleeskuikenslachterij en monsterlocaties A en B van de afvalwaterstroom

¹ Om de anonimiteit van de bedrijven te waarborgen heeft het RIVM geen toegang gehad tot gegevens van de bedrijven.

2.1.2 *Monsternames*

Het slachtafvalwater is in de periode van 6 september 2022 tot en met 1 februari 2023 tweemaal per week bemonsterd (met uitzondering van de kerstvakantie, 26 december 2022 - 3 januari 2023). Bemonsteren van locatie B is gestart op 17 oktober 2022. In totaal is op deze locatie gedurende 14 weken bemonsterd. Zeven monsternames zijn mislukt, voornamelijk als gevolg van verstopping van de apparatuur met slachtafval. Daarmee zijn in totaal op deze locatie 21 monsters verkregen die gebruikt zijn voor analyses in het laboratorium (zie bijlage 1). Tijdens deze 21 dagen zijn $3,5 \times 10^6$ vleeskuikens afkomstig van 195 unieke koppels geslacht.

Gedurende de eerste zes weken van monstername is alleen locatie A bemonsterd, gevolgd door vier weken waar beide locaties zijn bemonsterd. Daarna is gestopt met de monstername op locatie A. De tijdelijke parallelle bemonstering van beide locaties was uitgevoerd om het effect van het verlies van het afvalwater uit de 'broei/pluk' afdeling op bacterieconcentraties te onderzoeken. Vanwege enkele mislukte monsternames waren er in totaal vier data waar beide locaties vergeleken konden worden (zie bijlage 1). Op locatie A zijn in totaal 15 goedgekeurde monsters verkregen. Tijdens deze 15 dagen zijn $2,5 \times 10^6$ vleeskuikens afkomstig van 131 unieke koppels geslacht. Op de vier dagen met een geslaagde monstername op beide locaties zijn 28 unieke koppels geslacht. Deze zijn voor beide locaties meegeteld, wat de discrepantie verklaart tussen de 298 totaal geslachte koppels en de som van 131 en 195 voor respectievelijk locatie A en B.

De monsternames zijn uitgevoerd van 5:00 tot 2:00 met behulp van een automatische monsternamekast. Deze periode van 21 uur omvat de gehele slachtdag, inclusief het schoonmaken van de ruimtes aan het einde van de dag. Tijdens de bemonstering werd gedurende deze periode elke 5 minuten een hapje afvalwater genomen van 50 á 60 ml. Wanneer het volume te veel afweek van wat kan worden verwacht, werden monsters afgekeurd.

2.2 **Bacteriekweek**

In de monsters zijn de aantallen *E. coli* en carbapenem-producerende *Enterobacterales* (CPE) bepaald. Hiervoor werden verschillende volumes van het afvalwater gefiltreerd door membraanfilters met een poriëgrootte van $0,45 \mu\text{m}$. Voor *E. coli* werd per monster 0,03, 0,1, 0,3 en 1 μl afvalwater gefiltreerd waarna de filters op Tryptone Bile X-glucuronide agar (TBX, Biorad, Lunteren) werden geplaatst. Voor de isolatie van CPE werd per monster 0,1, 0,3, 1, 3 en 10 ml gefiltreerd, elk volume in tweevoud, waarna één filter per volume op "ChromID CARBA agar" en één filter per volume op "ChromID OXA48 agar" werd geplaatst (beide media van Biomerieux, Amersfoort). Om de kleine volumes ($< 1\text{ml}$) te kunnen onderzoeken werd het afvalwater eerst verdund in pepton fysiologisch zoutoplossing (PFZ), en werd 1 of 3 ml van de juiste verdunning gefiltreerd om het gewenste testvolume te bereiken. Alle kweken werden 4 tot 5 uur geïncubeerd bij 37°C , gevolgd door 18 tot 24 uur bij 44°C . Na incubatie werden alle platen geïnspecteerd op de groei van verdachte kolonies. Op de TBX-agar is *E. coli* herkenbaar als groene kolonies. Op CPE platen kleuren kolonies van *E. coli* roze en kolonies van andere *Enterobacterales* soorten, (zoals

Klebsiella) blauw. Verdachte kolonies werden geteld. Bacterie concentraties werden bepaald door de som van de kolonies te delen door het gefiltreerde volume, en uitgedrukt als kolonievormende eenheden per liter (kve/l). In geval van groei op CPE platen werden kolonies afgeënt op het zelfde medium om carbapenem-resistentie te bevestigen. Als dit het geval was werden de bacteriën verder gekarakteriseerd om de bacteriesoort te bepalen (met behulp van Maldi-TOF) en om vast te stellen of ze carbapenemase produceerden, en dus CPE waren, met behulp van de iCIM-test (Howard *et al.*, 2020).

3 Resultaten

3.1 CPE in slachterijafvalwater

In geen van de 21 afvalwatermonsters afkomstig van locatie B (afdeling "Panklaar") werden CPE gedetecteerd.

In één van de 15 monsters van locatie A (gehele slachterij) werd een *Klebsiella pneumoniae* aangetroffen met verminderde gevoeligheid voor ertapenem (*minimal inhibitory concentration* (MIC) van 0,75-1,5 µg/ml), maar niet voor de andere carbapenemases meropenem en imipenem (MIC's <0,25 µg/ml voor meropenem en <2 µg/ml voor imipenem). Verder onderzoek toonde aan dat deze bacterie geen carbapenemase produceerde. Het betrof dus geen CPE, maar een carbapenem-resistente *Enterobacterales* (CRE) met een ander mechanisme van resistentie dan de productie van carbapenemases. Waar deze bacterie vandaan kwam, uit kippen of uit een slachterijmedewerker, is gezien de aanwezigheid van humaan afvalwater op deze monsternamelocatie niet te zeggen.

3.2 *E. coli* concentraties

De gemiddelde *E. coli* concentratie op locatie B was $4,6 \times 10^7$ kve/l (range: $1,5 \times 10^7$ – $1,0 \times 10^8$). De concentratie was op locatie B iets lager dan op locatie A: voor de vier dagen dat beiden konden worden bepaald was dat 2,8 keer zo laag ($6,7 \times 10^7$ vergeleken met $1,9 \times 10^8$ kve/l). Ook waren de concentraties op locatie B gemiddeld iets lager dan wat in 2019 in het afvalwater van een varkensslachterij en een runderslachterij was gemeten (gemiddeld respectievelijk $5,8 \times 10^8$ kve/l en $2,2 \times 10^8$ kve/l) (Blaak *et al.*, 2020), en wat in humaan afvalwater wordt gemeten (gemiddeld $1,2 \times 10^8$ kve/l gebaseerd op metingen bij 100 RWZI's (Schmitt *et al.*, 2017). De orde van grootte is in alle gevallen echter vergelijkbaar.

4 Discussie

Er zijn geen CPE aangetroffen in het afvalwater van een kippen slachterij. Deze bevinding is in overeenstemming met bevindingen van de resistentie monitoring bij landbouwhuisdieren (MARAN, 2023). Gezamenlijk geven deze bevindingen aan dat CPE waarschijnlijk (nog) niet voorkomen bij Nederlandse vleeskuikens, of in hele lage frequentie.

Op de dagen dat de afvalwatermonsters zijn genomen werden in de slachterij in totaal $5,3 \times 10^6$ vleeskuikens geslacht, waarvan ongeveer de helft van Nederlandse bedrijven. Indien van al deze dieren fecale bacteriën in het afvalwater terecht zijn gekomen én deze homogeen verdeeld waren in de genomen monsters, zouden de afvalwatermonsters daarmee representatief zijn voor ongeveer 0,5% van alle geslachte Nederlandse vleeskuikens (5×10^8 in 2022 (CBS, 2023)).

In de onderzochte afvalwatermonsters was echter niet ál het fecale materiaal van de geslachte vleeskuikens aanwezig. Dat komt omdat het fecale materiaal wat afspoelt naar afvalwater voornamelijk vanaf het karkas of de huid van de dieren afkomstig is. Fecale contaminatie van het karkas kan ontstaan tijdens processen zoals broeien en het verwijderen van de darmen (Pacholewicz *et al.*, 2015; Rasschaert *et al.*, 2020). Een groot deel van de darminhoud verdwijnt met het maagdarmkanaal bij het slachterijafval. De *E. coli* concentraties in het afvalwater gaven aan dat de mate van fecale verontreiniging op beide locaties desalniettemin zeer hoog was

Wat betreft homogeniteit van het fecale materiaal in het afvalwater kan redelijkerwijs aangenomen worden dat er sprake is van een goede menging van fecaal materiaal tijdens het slachtproces, onder andere door het broeiproces en door veelvuldig contact met apparatuur. Het is daarom waarschijnlijk dat het afvalwater een redelijk homogeen mengsel van het fecale materiaal van verschillende dieren bevat. Het zeer grote aantal dieren dat per dag werd geslacht (gemiddeld 167.000 dieren afkomstig van 9 unieke koppels), de hoge *E. coli* concentraties in het afvalwater (iets lager maar nog steeds in dezelfde orde van grootte als humaan afvalwater), en de aanname van een goede menging van het totale fecale materiaal, maakt het aannemelijk dat elk monster representatief is voor een zeer groot aantal dieren.

Het is nog niet bekend hoeveel CPE-positieve dieren er aanwezig moeten zijn om de CPE in het slachterijafvalwater aan te kunnen tonen. De gevoeligheid van afvalwatermetingen wordt beïnvloed door o.a. de concentraties van CPE in feces en de variatie daarin tussen dieren, de hoeveelheid fecale materie op de karkassen, het waterverbruik, eigenschappen van het afvalwaterleidingnetwerk (o.a. lengte, breedte), de mate van menging (homogenisatie) van uitwerpselen van individuele dieren in het afvalwater, en het monsternamen-regime (d.w.z. met welke frequentie deelmonsters worden genomen). Er ontbreken echter te veel van de bovengenoemde gegevens om de gevoeligheid van afvalwatermetingen door middel van modellering te berekenen.

In de nationale resistentie monitoring bij landbouwhuisdieren worden caecum monsters genomen van vleeskuikens bij slachterijen. Sinds 2021 worden 300 poolmonsters onderzocht, die afkomstig zijn van ongeveer 300 unieke koppels van Nederlandse vleeskuikens, waarbij elk monster bestaat uit de caeca van 10 dieren van hetzelfde koppel (Kees Veldman, persoonlijke communicatie). Op jaarbasis worden dus 3000 vleeskuikens getest, afkomstig van ongeveer 300 verschillende koppels van ongeveer 300 Nederlandse bedrijven. Op de dagen dat in het huidige onderzoek afvalwater is bemonsterd zijn in totaal 298 koppels vleeskuikens geslacht. Hoewel in beide vormen van surveillance nagenoeg hetzelfde aantal koppels is onderzocht, is ongeveer de helft van de koppels en bedrijven in de afvalwatersurveillance afkomstig uit het buitenland. In de monitoring bij landbouwhuisdieren werden daarnaast meer verschillende bedrijven bemonsterd (300 vergeleken met ongeveer 103, waarvan ongeveer de helft Nederlands). Aan de andere kant werden door middel van afvalwatersurveillance waarschijnlijk een veelvoud van 10 vleeskuikens per koppel gescreend. Immers, met een gemiddelde koppelgrootte van 18.000 dieren gaat het zelfs als het afvalwater niet representatief is voor alle dieren nog steeds om grote aantallen.

Wanneer afvalwatersurveillance in het huidige format uitgevoerd wordt (1 slachterij, gemiddeld 9 geslachte koppels per dag, monstername gedurende 20 weken, 2 monsternames per week, resulterend in ongeveer 300 gescreende koppels, vergelijkbaar met de reguliere landbouwhuisdieren monitoring), lijkt het monitoren van afvalwater van vleeskuikenslachterijen met name een toegevoegde waarde te hebben wanneer de verspreiding van de onderzochte bacterie binnen koppels beperkt is. Het screenen van meer dieren per koppel vergroot dan de kans van detectie. Voor ESBL-producerende *E. coli* heeft een in 2009 uitgevoerde studie aangetoond dat de binnen-bedrijf prevalentie zeer hoog was, op de meeste vleeskuikenbedrijven 80% of hoger (Dierikx *et al.*, 2013). In zo'n situatie heeft het screenen van een groter aantal dieren per koppel geen toegevoegde waarde. Sinds 2012 is het antibioticagebruik in deze sector echter fors gereduceerd, met een afnemende prevalentie op populatie niveau tot gevolg (MARAN, 2023). Niet gepubliceerde data uit 2016 geven aan dat de binnen-bedrijf prevalentie toen bijna twee keer lager was dan in 2009 (C. Dierikx, persoonlijke communicatie). Het is onbekend hoe de situatie zou zijn bij de introductie in deze diersector van een nieuwe vorm van antibioticaresistentie, zoals CPE. Het is aannemelijk dat de mate van verspreiding binnen bedrijven vergelijkbaar zal zijn met de huidige situatie voor ESBL-producerende *E. coli*.

De toegevoegde waarde van slachterijsafvalwatermetingen bij slachterijen ten opzichte van de reguliere monitoring van CPE bij landbouwhuisdieren, hangt dus sterk samen met het verwachte verspreidingspatroon van de onderzochte vorm van resistentie in de onderzochte dierpopulatie en binnen bedrijven, en van het aantal dieren, koppels en bedrijven wat onderzocht wordt in de reguliere surveillance. Om de toegevoegde waarde van slachterijsafvalwatersurveillance voor het monitoren van resistentie bij vleeskuikens beter te duiden, zou de relatieve gevoeligheid van beide vormen van surveillance gegeven een bepaalde prevalentie op dierpopulatie- en op binnen-bedrijf-niveau (en

met scenario's voor aantal gescreende dieren totaal en per koppel) door middel van modellering kunnen worden bepaald. Daarnaast zouden de kosten voor aanvulling van de reguliere surveillance met slachterijafvalwatersurveillance moeten worden meegewogen. In andere diersectoren waar op dit moment één individu per koppel/bedrijf wordt gescreend, zoals vleesvarkens en vleeskalveren, is de toegevoegde waarde van slachterijafvalwatersurveillance naar verwachting hoger (Blaak *et al.*, 2020).

Hoewel meten in slachterijafvalwater in specifieke situaties waarschijnlijk gevoeliger is dan meten van individuele dieren omdat er meer dieren tegelijk kunnen worden onderzocht, is meten in afvalwater echter ook minder specifiek. Immers, als in een afvalwatermonster CPE worden gevonden is het niet duidelijk van welk bedrijf/bedrijven het positieve dier/de positieve dieren afkomstig zijn. Ook is het land van herkomst van een positief dier onbekend, omdat de geslachte dieren niet alleen uit Nederland, maar ook uit het buitenland afkomstig zijn. Als CPE in een slachterij-afvalwatermonster worden gedetecteerd en opsporing van de bron van deze CPE gewenst is, is het daarom noodzakelijk om aanvullend onderzoek te doen op de bedrijven die op de betreffende dag aan de betreffende slachterij dieren hebben geleverd.

Ten slotte, de invloed van humaan afvalwater op locatie A in de huidige slachterij toont aan dat het voor afvalwatersurveillance in slachthuizen van belang is om binnen elke slachterij een geschikte locatie in het afvalwatersysteem te kiezen, zó dat een zo groot mogelijk deel van de afvalwaterstroom van de slacht wordt bemonsterd maar ook dat er geen sprake is van contaminatie met humaan afvalwater. In het huidige onderzoek is uiteindelijk voor locatie B gekozen in nauw overleg met de slachterij en aan de hand van de resultaten van kleurstof-testen. Hoewel op locatie B een deel van de slachtafvalwaterstroom niet werd bemonsterd was daar humane contaminatie uitgesloten.

5 Conclusies en aanbevelingen

In de uitgevoerde metingen in slachterijafvalwater werden geen CPE gevonden. Dit geeft aan dat CPE niet bij de onderzochte dieren voorkomen, tenminste niet op een detecteerbaar niveau.

Afvalwatersurveillance lijkt met name een goede aanvulling op de nationale resistentie monitoring voor het monitoren van antibioticaresistente bacteriën die (nog) niet wijd verspreid zijn, en waar het screenen van meer dieren per koppel een grotere kans geeft op detectie. Dat is het geval wanneer de prevalentie binnen bedrijven laag is of voor diersectoren waar in de reguliere monitoring één individu per koppel wordt gescreend.

6 Dankwoord

Onze grote dank gaat uit naar de vleeskuikenslachterij voor het verlenen van hun medewerking aan dit onderzoek, zowel wat betreft de inhoudelijke support als ook de getoonde betrokkenheid bij de praktische uitvoering. Daarnaast willen we graag de betrokken medewerkers van IMD BV bedanken voor hun flexibiliteit en creativiteit, waardoor mengmonsters konden worden verkregen.

7 Referenties

- Aarestrup, F.M. en Woolhouse, M.E.J. 2020. Using sewage for surveillance of antimicrobial resistance. *Science* 367(6478), 630-632.
- Albiger, B., Glasner, C., Struelens, M.J., Grundmann, H., Monnet, D.L. en European Survey of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae working group 2015. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Europe: assessment by national experts from 38 countries, May 2015. *Euro Surveill* 20(45).
- Asghar, H., Diop, O.M., Weldegebriel, G., Malik, F., Shetty, S., El Bassioni, L., Akande, A.O., Al Maamoun, E., Zaidi, S., Adeniji, A.J., Burns, C.C., Deshpande, J., Oberste, M.S. en Lowther, S.A. 2014. Environmental surveillance for polioviruses in the Global Polio Eradication Initiative. *J Infect Dis* 210 Suppl 1, S294-303.
- Blaak, H., Kemper, M.A., de Man, H., van Leuken, J.P.G., Schijven, J.F., van Passel, M.W.J., Schmitt, H. en de Roda Husman, A.M. 2021. Nationwide surveillance reveals frequent detection of carbapenemase-producing Enterobacterales in Dutch municipal wastewater. *Sci Total Environ* 776.
- Blaak, H., Kemper, M.A., Hendrickx, A.P.A., van Santen-Verheувel, M.G., Leung, K.Y., de Roda Husman, A.M. en Schmitt, H. 2022. ABR rioolwater surveillance 2020-2021. RIVM Rapport 2022-0008.
- Blaak, H., Kemper, M.A., Schilperoort, R., de Rijk, S.E., de Roda Husman, A.M. en Schmitt, H. 2020. Antibioticaresistente bacterien in slachterijafvalwater. RIVM Rapport 2020-0166.
- Canton, R., Akova, M., Carmeli, Y., Giske, C.G., Glupczynski, Y., Gniadkowski, M., Livermore, D.M., Miriagou, V., Naas, T., Rossolini, G.M., Samuelsen, O., Seifert, H., Woodford, N., Nordmann, P. en European Network on, C. 2012. Rapid evolution and spread of carbapenemases among Enterobacteriaceae in Europe. *Clin Microbiol Infect* 18(5), 413-431.
- CBS 2023 Vleesproductie; aantal slachtingen en geslacht gewicht per diersoort.
<https://opendata.cbs.nl/#/CBS/nl/dataset/7123slac/table>.
- Dierikx, C., van der Goot, J., Fabri, T., van Essen-Zandbergen, A., Smith, H. en Mevius, D. 2013. Extended-spectrum-beta-lactamase- and AmpC-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in Dutch broilers and broiler farmers. *J Antimicrob Chemother* 68(1), 60-67.
- Guerra, B., Fischer, J. en Helmuth, R. 2014. An emerging public health problem: acquired carbapenemase-producing microorganisms are present in food-producing animals, their environment, companion animals and wild birds. *Vet Microbiol* 171(3-4), 290-297.

- Hendriksen, R.S., Munk, P., Njage, P., van Bunnik, B., McNally, L., Lukjancenko, O., Roder, T., Nieuwenhuijse, D., Pedersen, S.K., Kjeldgaard, J., Kaas, R.S., Clausen, P., Vogt, J.K., Leekitcharoenphon, P., van de Schans, M.G.M., Zuidema, T., de Roda Husman, A.M., Rasmussen, S., Petersen, B., Global Sewage Surveillance project, c., Amid, C., Cochrane, G., Sicheritz-Ponten, T., Schmitt, H., Alvarez, J.R.M., Aidara-Kane, A., Pamp, S.J., Lund, O., Hald, T., Woolhouse, M., Koopmans, M.P., Vigre, H., Petersen, T.N. en Aarestrup, F.M. 2019. Global monitoring of antimicrobial resistance based on metagenomics analyses of urban sewage. *Nat Commun* 10(1), 1124.
- Howard, J.C., Creighton, J., Ikram, R. en Werno, A.M. 2020. Comparison of the performance of three variations of the Carbapenem Inactivation Method (CIM, modified CIM [mCIM] and in-house method (iCIM)) for the detection of carbapenemase-producing Enterobacterales and non-fermenters. *J Glob Antimicrob Resist* 21, 78-82.
- Huijbers, P.M.C., Larsson, D.G.J. en Flach, C.F. 2020. Surveillance of antibiotic resistant *Escherichia coli* in human populations through urban wastewater in ten European countries. *Environ Pollut* 261, 114200.
- Hutinel, M., Huijbers, P.M.C., Fick, J., Åhrén, C., Larsson, D.G.J. en Flach, C.F. 2019. Population-level surveillance of antibiotic resistance in *Escherichia coli* through sewage analysis. *Eurosurveillance* 24(37).
- Kock, R., Daniels-Haardt, I., Becker, K., Mellmann, A., Friedrich, A.W., Mevius, D., Schwarz, S. en Jurke, A. 2018. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in wildlife, food-producing, and companion animals: a systematic review. *Clin Microbiol Infect* 24(12), 1241-1250.
- Kwak, Y.K., Colque, P., Byfors, S., Giske, C.G., Mollby, R. en Kuhn, I. 2015. Surveillance of antimicrobial resistance among *Escherichia coli* in wastewater in Stockholm during 1 year: does it reflect the resistance trends in the society? *Int J Antimicrob Agents* 45(1), 25-32.
- Logan, L.K. en Weinstein, R.A. 2017. The Epidemiology of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae: The Impact and Evolution of a Global Menace. *J Infect Dis* 215(suppl_1), S28-S36.
- MARAN 2020 Monitoring of antimicrobial resistance and antibiotic usage in animals in The Netherlands in 2019. Veldman, K.T., Wit, B., Franz, E., Wullings, B., Heederik, D.J.J. and Mevius, D.J. (eds), <https://www.wur.nl/en/Research-Results/Research-Institutes/Bioveterinary-Research/show-bvr/Antimicrobial-resistance-in-the-Netherlands-remains-stable.htm>
- MARAN 2023 Monitoring of antimicrobial resistance and antibiotic usage in animals in The Netherlands in 2022. Veldman, K.T., Wit, B., Franz, E. and Heederik, D.J.J. (eds), <https://www.wur.nl/nl/onderzoek-resultaten/onderzoeksinstituten/bioveterinary-research/show-bvr/antibioticaresistentie-bij-landbouwhuisdieren-stabiliseert.htm>.

- Munk, P., Brinch, C., Moller, F.D., Petersen, T.N., Hendriksen, R.S., Seyfarth, A.M., Kjeldgaard, J.S., Svendsen, C.A., van Bunnik, B., Berglund, F., Global Sewage Surveillance, C., Larsson, D.G.J., Koopmans, M., Woolhouse, M. en Aarestrup, F.M. 2022. Genomic analysis of sewage from 101 countries reveals global landscape of antimicrobial resistance. *Nat Commun* 13(1), 7251.
- Nordmann, P., Naas, T. en Poirel, L. 2011. Global spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerg Infect Dis* 17(10), 1791-1798.
- NVWA 2022
<https://www.nvwa.nl/onderwerpen/dierenwelzijn/inspectieresultaten/inspectieresultaten-dierenwelzijn-vleeskuikens-2022>.
- Pacholewicz, E., Liakopoulos, A., Swart, A., Gortemaker, B., Dierikx, C., Havelaar, A. en Schmitt, H. 2015. Reduction of extended-spectrum-beta-lactamase- and AmpC-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* through processing in two broiler chicken slaughterhouses. *Int J Food Microbiol* 215, 57-63.
- Pärnänen, K.M.M., Narciso-Da-Rocha, C., Kneis, D., Berendonk, T.U., Cacace, D., Do, T.T., Elpers, C., Fatta-Kassinos, D., Henriques, I., Jaeger, T., Karkman, A., Martinez, J.L., Michael, S.G., Michael-Kordatou, I., O'Sullivan, K., Rodriguez-Mozaz, S., Schwartz, T., Sheng, H., Sørum, H., Stedtfeld, R.D., Tiedje, J.M., Giustina, S.V.D., Walsh, F., Vaz-Moreira, I., Virta, M. en Manaia, C.M. 2019. Antibiotic resistance in European wastewater treatment plants mirrors the pattern of clinical antibiotic resistance prevalence. *Science Advances* 5(3).
- Patel, G. en Bonomo, R.A. 2013. "Stormy waters ahead": global emergence of carbapenemases. *Front Microbiol* 4, 48.
- Potter, R.F., D'Souza, A.W. en Dantas, G. 2016. The rapid spread of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *Drug resistance updates : reviews and commentaries in antimicrobial and anticancer chemotherapy* 29, 30-46.
- Rasschaert, G., De Zutter, L., Herman, L. en Heyndrickx, M. 2020. *Campylobacter* contamination of broilers: the role of transport and slaughterhouse. *Int J Food Microbiol* 322, 108564.
- Schmitt, H., Blaak, H., Kemper, M., van Passel, M., Hierink, F., van Leuken, J., De Roda Husman, A.M., van der Grinten, E., Rutgers, M., Schijven, J., De Man, H., Hoeksma, P. en Zuidema, T. 2017. Bronnen van antibioticaresistente bacteriën in het milieu en mogelijke maatregelen. RIVM Rapport 2017-0085.
- Tzouvelekis, L.S., Markogiannakis, A., Piperaki, E., Souli, M. en Daikos, G.L. 2014. Treating infections caused by carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol Infect* 20(9), 862-872.
- van Hattem, J.M., Arcilla, M.S., Bootsma, M.C., van Genderen, P.J., Goorhuis, A., Grobusch, M.P., Molhoek, N., Oude Lashof, A.M., Schultsz, C., Stobberingh, E.E., Verbrugh, H.A., de Jong, M.D., Melles, D.C. en Penders, J. 2016. Prolonged carriage and potential onward transmission of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Dutch travelers. *Future Microbiol* 11, 857-864.

Vlek, A.L., Frentz, D., Haenen, A., Bootsma, H.J., Notermans, D.W., Frakking, F.N., de Greeff, S.C., Leenstra, T. en group, I.-A.s. 2016. Detection and epidemiology of carbapenemase producing Enterobacteriaceae in the Netherlands in 2013-2014. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 35(7), 1089-1096.

WHO 2003 Guidelines for environmental surveillance of poliovirus circulation. Available: http://polioeradication.org/wp-content/uploads/2016/07/WHO_V-B_03.03_eng.pdf.

WHO 2017 Prioritization of pathogens to guide discovery, research and development of new antibiotics for drug resistant bacterial infection, including tuberculosis. Available at: http://www.who.int/medicines/areas/rational_use/prioritization-of-pathogens/en/ (accessed January 2020).

Bijlage Monsternamedata

Weeknr.	Monstername		Locatie	
	Start	Stop	Locatie A	Locatie B
36	5-9-2022	6-9-2022	✓	
36	6-9-2022	7-9-2022	✓	
37	12-9-2022	13-9-2022	✓	
37	13-9-2022	14-9-2022	✓	
38	19-9-2022	20-9-2022	✓	
38	20-9-2022	21-9-2022	✓	
39	26-9-2022	27-9-2022	✓	
39	27-9-2022	28-9-2022	✓	
40	3-10-2022	4-10-2022	✓	
40	4-10-2022	5-10-2022	✗	
41	10-10-2022	11-10-2022	<i>monsters niet ingezet wegens ziekte</i>	
41	11-10-2022	12-10-2022		
42	17-10-2022	18-10-2022	✓	✗
42	18-10-2022	19-10-2022	✓	✓
43	24-10-2022	25-10-2022	✗	✓
43	25-10-2022	26-10-2022	✗	✗
44	31-10-2022	1-11-2022	✓	✓
44	1-11-2022	2-11-2022	✓	✓
45	7-11-2022	8-11-2022	✓	✓
45	8-11-2022	9-11-2022	✓	✗
46	14-11-2022	15-11-2022		✓
46	15-11-2022	16-11-2022		✓
47	21-11-2022	22-11-2022		✓
47	22-11-2022	23-11-2022		✓
48	28-11-2022	29-11-2022		✓
48	29-11-2022	30-11-2022		✓
49	5-12-2022	6-12-2022		✓
49	6-12-2022	7-12-2022		✗
50	12-12-2022	13-12-2022		✓
50	13-12-2022	14-12-2022		✓
51	19-12-2022	20-12-2022		✓
51	20-12-2022	21-12-2022		✓
2	9-1-2023	10-1-2023		✓
2	10-1-2023	11-1-2023		✓
3	16-1-2023	17-1-2023		✓
3	17-1-2023	18-1-2023		✗
4	23-1-2023	24-1-2023		✗
4	24-1-2023	25-1-2023		✗
5	30-1-2023	31-1-2023		✓
5	31-1-2023	1-2-2023		✓

✓ Monstername gelukt en monster geanalyseerd, ✗ monstername mislukt

Dit is een uitgave van:

**Rijksinstituut voor Volksgezondheid
en Milieu**

Postbus 1 | 3720 BA Bilthoven

Nederland

www.rivm.nl

december 2023

De zorg voor morgen
begint vandaag