

Rapportage Campylobacter aanpak kippenvlees in Nederland

Resultaten van monitoring in 2013 op de Nederlandse vleeskuikenslachterijen



NEPLUVI
Kokermolen 11
3994 DG te Houten

Mei 2014

Dit onderzoek is uitgevoerd met subsidie van het
Productschap Pluimvee en Eieren (PPE).



Inhoudsopgave

Inleiding	4
Doel	5
Materiaal en methoden	6
Bemonstering en kwantificering	6
Kwartaaloverzicht slachterijen	6
Resultaten	8
Campylobacter niveaus op borstvel en blindedarm	8
Resultaten blindedarmmonsters	8
Resultaten borstvelmonsters	9
Resultaten borstvelmonsters, onderverdeeld naar al dan niet besmette koppels	10
Resultaten blindedarmmonsters per slachterij	10
Resultaten borstvelmonsters pluimveeslachterijen: per slachterij per maand	13
Resultaten borstvelmonsters per slachterij i.r.t. al dan niet besmet aangevoerde koppels	16
Resultaten risicoanalyse procespunten slachterijen	17
Broeien	17
Plukken	18
Panklaar maken	18
Koelen	18
Opdelen van het karkas	18
Discussie	19
Conclusie	24
Bijlage 1 Projectprotocol NRLC06	25
Bijlage 2 NRLC09	30
Bijlage 3 Handvatten voor reductie Campylobacter	31
Bijlage 4 Literatuur	34

Inleiding

Voor zowel het bedrijfsleven als de overheid is voedselveiligheid een belangrijk thema. Van voedsel gerelateerde infecties bij de mens is *Campylobacter* een van de meest voorkomende veroorzakers. Uit onderzoek van de EFSA (2008) blijkt dat er in Nederland, vergeleken met andere Europese landen, relatief weinig *Campylobacter* besmettingen bij vleeskuikens zijn. De vereniging van de Nederlandse Pluimveeverwerkende Industrie (NEPLUVI) wil haar bijdrage leveren teneinde het aantal ziektegevallen veroorzaakt door *Campylobacter* op pluimveevlees zo laag mogelijk te houden.

Hoewel het op een juiste manier bereiden en garen van kip resulteert in een afdoding van de *Campylobacter* bacteriën, wordt geschat dat 20-30% van de *Campylobacter* besmettingen bij de mens toch veroorzaakt wordt door de bereiding en/of consumptie van kip (EFSA, 2011). Onvoldoende keuken hygiëne speelt hierbij een zeer belangrijke rol.

Voor de jaren 2009 en 2010 was er tussen VWS en NEPLUVI het “Convenant *Campylobacter* Aanpak pluimveevlees in Nederland” afgesloten en voor de jaren 2011 en 2012 het “Tweede Convenant *Campylobacter* Aanpak pluimveevlees in Nederland 2011-2012”. Doel van deze convenanten was het monitoren van het *Campylobacter* niveau bij de Nederlandse vleeskuikenslachterijen, en verlaging van dit niveau waar mogelijk. Achterliggend doel was om het aantal ziektegevallen door *Campylobacter* in Nederland te verminderen.

In de onderstaande tabel treft u de resultaten van de borstvelmonsters van de vleeskuikenslachterijen van het Eerste en Tweede Convenant aan.

Tabel 1: Procentuele verdeling borstvelmonsters Eerste en Tweede Convenant *Campylobacter* vleeskuikenslachterijen

Borstvelmonsters	$x < 10$	$10 \leq x < 100$	$100 \leq x < 1.000$	$1.000 \leq x < 10.000$	$x \geq 10.000$
Eerste Convenant (n=4964)	44,7%	19,6%	25,8%	8,5%	1,4%
Tweede Convenant (n=4630)	47,8%	17,7%	26,1%	7,6%	0,8%

Het *Campylobacter* niveau op het eindproduct is gedurende de jaren waarin de Twee Convenanten plaatsvonden, afgenomen.

Met het ministerie van VWS is afgesproken dat zij onderzoek doen naar andere bronnen en transmissieroutes van *Campylobacter*, buiten het (bereiden en) consumeren van kippenvlees. Hierbij kan gedacht worden aan verspreiding van *Campylobacter* via bijvoorbeeld oppervlaktewater, de lucht of vliegen. Met behulp van dit aanvullende onderzoek komt een

completer beeld beschikbaar over de relevantie van (de consumptie van) pluimveevlees voor humane Campylobacterbesmettingen.

In 2013 zijn de vleeskuikenslachterijen doorgedaan met de monitoring van het Campylobacterniveau. Hierdoor werd continue monitoring van het Campylobacterniveau na de twee Convenants perioden door de sector zelf gewaarborgd en konden slachterijen blijven onderzoeken welke interventie maatregelen bijdragen aan de Campylobacterreductie. Deze rapportage beschrijft de resultaten van de monitoring op Campylobacter (blindedarm en borstvel) in 2013 op de Nederlandse vleeskuikenslachterijen. Tevens worden de risico-inventarisatie en de maatregelen in de slachtlijn, om het Campylobacter niveau omlaag te brengen, beschreven.

Doel

Dit onderzoek is uitgevoerd in de vleeskuikenslachterijen om het landelijk niveau van het aantal Campylobacter bacteriën bij aanvoer (blindedarm) en op het karkas na slacht (borstvel) te bepalen. Hiermee kon een relatie worden gelegd tussen het niveau bij aanvoer en het niveau op borstvel, waardoor het belang van het Campylobacterniveau in de primaire sector (t.a.v. Campylobacterbesmettingen bij de mens) beter in beeld komt. Tevens wordt gepoogd om middels interventie maatregelen in de slachterij het Campylobacterniveau en daarmee het risico op besmettingen bij de mens te reduceren.

Materiaal en methoden

Alle 16 vleeskuikenslachterijen in Nederland, die ook allen lid zijn van NEPLUVI, werkten mee aan dit onderzoek.

Bemonstering en kwantificering

Het bemonsterings- en analyse protocol is opgesteld in nauwe samenwerking met het Centraal Veterinair Instituut. Dit is tevens het Nationaal Referentie Lab (NRL) voor Campylobacter. Zij zorgen voor de borging van het laboratorium onderzoek. De bemonstering en de analyses worden gedaan conform de methode als omschreven in Standard Operating Procedure nr.: NRLC06 van het NRL (bijlage 1). Het protocol schrijft voor dat de vleeskuikenslachterijen per week drie koppels bemonsteren. Per koppel wordt in de panklaar lijn een gepooled blindedarm monster (bestaande uit 10 blindedarmen) genomen en aan het einde van de slachtlijn, direct na de koeling, een borstvelmonster. De uitslagen van de bemonstering worden weergegeven als aantal kolonievormende eenheden (kve) per gram. De detectiegrens van borstvelmonsters is 10 kve/gram en < 10 kve/gram staat voor “geen Campylobacters aangetoond”. De borstvelmonsters worden in deze rapportage gegroepeerd in 5 niveaus: $x < 10$, $10 \leq x < 100$, $100 \leq x < 1.000$, $1.000 \leq x < 10.000$ en $x \geq 10.000$, waarbij x = aantal kve/gram. De detectiegrens van blindedarmmonsters is 100 kve/gram en < 100 kve/gram staat voor “geen Campylobacters aangetoond”¹. Ruim 95% van de blindedarmmonsters scoorden of laag ($x < 100$) of hoog ($x \geq 100.000$). Er is voor gekozen om de resultaten van de blindedarmmonsters in twee categorieën weer te geven: niet (of laag) besmet ($x < 10.000$) en wel (hoog) besmet ($x \geq 10.000$), waarbij x = aantal kve/gram.

Om de kwaliteit van analyses te waarborgen en te zorgen dat de deelnemende laboratoria op één lijn zitten en blijven wat betreft wijze van kweken, tellen et cetera vindt er overleg plaats met de laboratoria die de analyses van de Campylobacter monsters verrichten, waarbij ervaringen worden uitgewisseld en waar nodig procedures worden aangescherpt. Borging van analyses wordt tevens verkregen door middel van eerstelijns controles, schaduw onderzoeken en ringonderzoeken met rondzendmonsters (zie bijlage 2 voor de kwaliteitsborging van analyses van de genomen monsters). De werkgroep projectplan monitoring Campylobacter bewaakt de voortgang van de monitoring van Campylobacter op de Nederlandse pluimveeslachterijen. In deze werkgroep zitten vertegenwoordigers van pluimveeslachterijen, het Productschap voor Pluimvee en Eieren (PPE), CVI en NEPLUVI.

Kwartaaloverzicht slachterijen

De kwaliteitsmanagers van de deelnemende slachterijen krijgen eens per kwartaal een overzicht van het gevonden Campylobacterniveau bij aanvoer en op borstvel van de bemonsterde koppels. De resultaten van de betreffende slachterijen worden samen met de

¹ Het kan zo zijn dat de blindedarmmonsters overgroeid zijn met stoorflora en dus niet zijn af te lezen bij een bepaalde verdunning. In dit geval zal een extra verdunning/verdunningen worden ingezet, waardoor de laagste categorie < 1.000 of zelfs < 10.000 danwel < 100.000 kan worden.

(anonieme) resultaten van andere slachterijen gepresenteerd, waardoor er een benchmark plaatsvindt.

Mogelijke interventie maatregelen komen beschikbaar voor de andere deelnemende slachterijen. Uit het Eerste en Tweede Convenant is duidelijk geworden dat het niet makkelijk is om te bepalen welke interventie maatregelen (welk) effect hebben. Desalniettemin is ook in 2013 getracht om, m.b.v. interventie maatregelen, het Campylobacter niveau te laten dalen.

Resultaten

Campylobacter niveaus op borstvel en blindedarm

Dit hoofdstuk beschrijft de resultaten van de borstvel- en blindedarm monsters. De genomen monsters bij de slachterijen zijn alleen verwerkt indien zowel het blindedarmmonster als het bijbehorende borstvelmonster afkomstig waren van hetzelfde koppel. Alle monsters zijn gecheckt op validiteit, waarbij diegene die (aan)bevroren zijn geweest of waarbij de Campylobacter is gaan “spreiden” niet zijn meegenomen in de analyse. Uiteindelijk zijn 2291 borstvel- en 2291 blindedarmmonsters opgenomen. Alle uitslagen zijn weergegeven als procentuele verdeling over de categorieën kve/gram².

Resultaten blindedarmmonsters

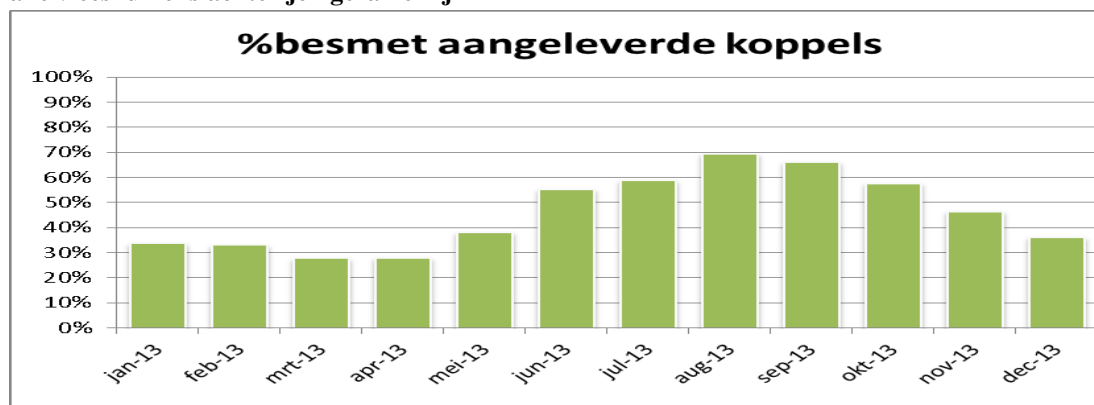
In tabel 4 staat weergegeven dat er in 2013 bij de vleeskuikenslachterijen 46,2 % van de vleeskuikens besmet werd aangevoerd (>10.000 kve/gram) en 53,8% niet besmet werd aangevoerd.

Tabel 4. Resultaten blindedarm vleeskuikenslachterijen: procentuele verdeling categorieën niet/laag besmet en wel/hoog besmet

	Koppel niet besmet ($x < 10.000$ kve/gram in blindedarm)	Koppel wel besmet ($x \geq 10.000$ kve/gram in blindedarm)
Vleeskuikenslachterijen	53,8%	46,2%

In figuur 1 is weergegeven wat in 2013 het Campylobacterniveau bij aanvoer is, onderverdeeld per maand. Hieruit is op te maken dat er sprake is van een seizoenseffect: in de zomermaanden worden meer besmette koppels gevonden dan in de wintermaanden.

Figuur 1 Procentuele weergave per maand van het aantal besmet aangevoerde koppels weergegeven voor alle vleeskuikenslachterijen gezamenlijk



² Uit het wegen van de data van het Convenant Campylobacter van 2009-2010 bleek dat deze weging niet leidde tot noemenswaardige wijzigingen in de verdeling van de data. De data van 2013 is niet gewogen.

Resultaten borstvelmonsters

Tabel 5 geeft voor 2013 de percentages weer van het Campylobacterniveau op borstvel, onderverdeeld naar de vijf categorieën.

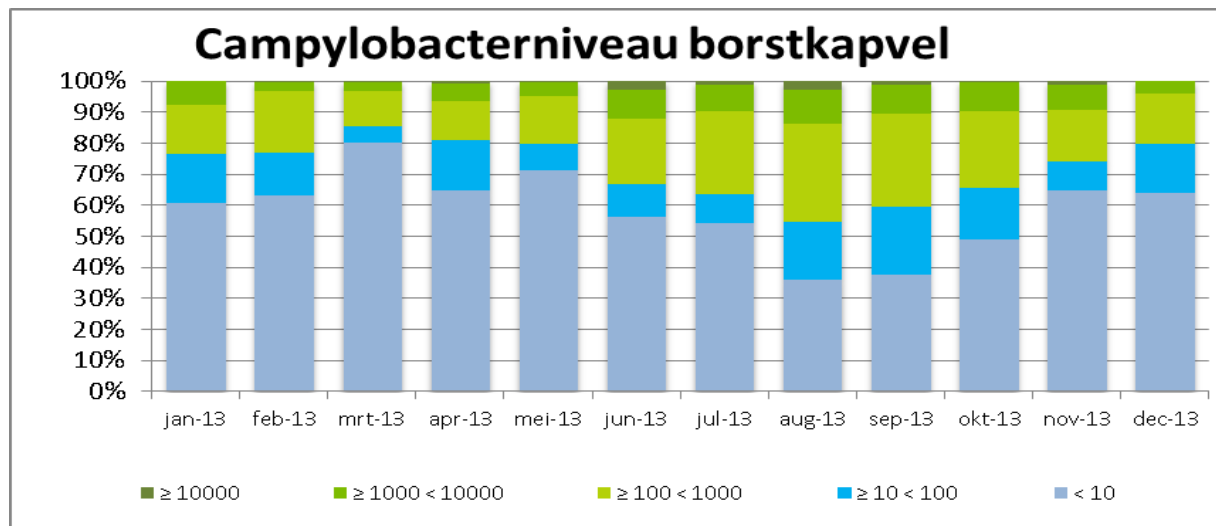
Tabel 5. Resultaten borstvel: procentuele verdeling categorieën $x < 10$, $10 \leq x < 100$, $100 \leq x < 1.000$, $1.000 \leq x < 10.000$ en $x \geq 10.000$ kve/gram Campylobacter³

	$x < 10$	$10 \leq x < 100$	$100 \leq x < 1.000$	$1.000 \leq x < 10.000$	$x \geq 10.000$
Vleeskuikenslachterijen borstvel	58,4%	13,1%	20,3%	7,0%	1,0%

In tabel 5 is weergegeven dat er in 58,4% van de bemonsterde borstvelen van de vleeskuikenslachterijen er geen Campylobacter is gedetecteerd. 13,1% van de monsters bevat waarden tussen de 10 en 100 kve/gram, terwijl dit in 20,3% van de gevallen wordt gevonden voor waarden tussen de 100 en 1.000 kve/gram. 7,0% van de monsters bevat waarden tussen de 1.000 en 10.000 kve/gram. In 1,0 % van de bemonsterde borstvelen is het Campylobacterniveau meer dan 10.000 kve/gram.

Figuur 2 laat het gemiddelde Campylobacterniveau op borstvel van alle vleeskuikenslachterijen zien, onderverdeeld per maand. In de zomermaanden is op het eindproduct een hoger niveau te zien dan in de wintermaanden.

Figuur 2. De procentuele verdeling van de categorieën $x < 10$, $10 \leq x < 100$, $100 \leq x < 1.000$, $1.000 \leq x < 10.000$ en $x \geq 10.000$ kve/gram Campylobacter in borstvel per maand in 2013.



³ Wegens afronding van de cijfers komt het opgetelde percentage van alle categorieën niet op 100 uit.

Resultaten borstvelmonsters, onderverdeeld naar al dan niet besmette koppels

Slachterijen hebben van elk bemonsterd koppel zowel een blindedarmmonster als een borstvelmonster genomen. Hierdoor kan een relatie gelegd worden tussen het besmettingsniveau van de aangevoerde koppels (wel of niet besmet) en het niveau van Campylobacter op borstvel. Om deze relatie inzichtelijk te maken is ervoor gekozen om het totale percentage borstvel weer te geven met een waarde van 1.000 kve/gram of meer.

Dit is gedaan voor:

- alle koppels
- alleen de niet besmet aangevoerde koppels (blindedarm <10.000 kve/gram)
- alleen de wel besmet aangevoerde koppels (blindedarm $x \geq 10.000$ kve/gram)

Uit tabel 6 blijkt dat bij 8,0 % van alle koppels het borstvel boven de waarde van 1.000 kve/gram zit. Als we alleen kijken naar de koppels die niet besmet zijn aangevoerd, dan zit van deze koppels 2,0% boven deze waarde. 15,0% van de bemonsterde borstvelen van koppels die besmet zijn aangevoerd, bevatten waarden van >1.000 kve/gram.

Tabel 6: Weergave % borstvel van de vleeskuikenslachterijen >1.000 kve/gram onderverdeeld naar al dan niet besmet aangevoerde koppels

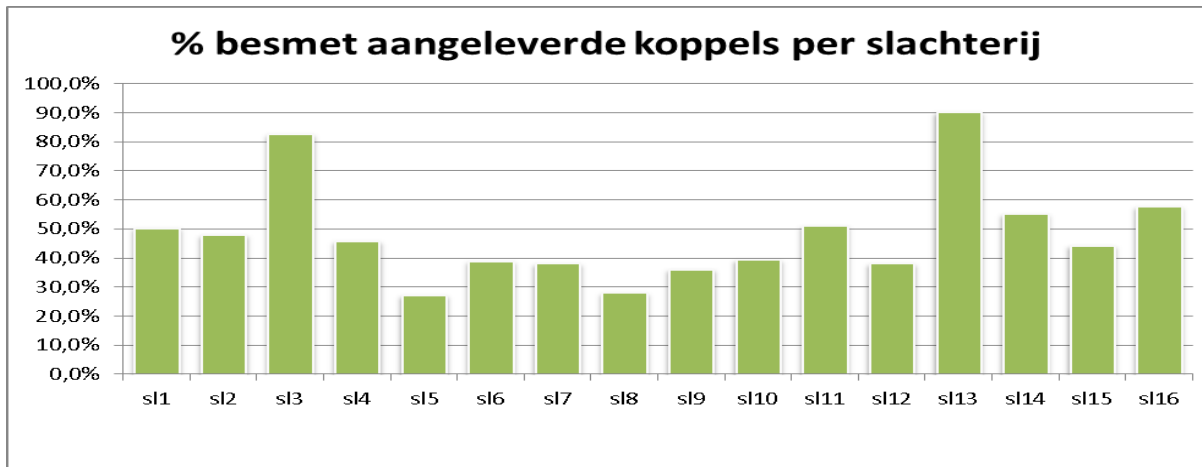
	% Borstvel >1.000 kve/gram
Alle koppels	8,0%
Niet besmet aangevoerde koppels (blindedarm <10.000 kve/gram)	2,0%
Wel besmet aangevoerde koppels (blindedarm >10.000 kve/gram)	15,0%

Uit bovenstaande tabel blijkt dat uit niet besmet aangevoerde koppels veel minder vaak borstvelmonsters boven de waarde van 1.000 kve/gram worden gevonden i.t.t. wel besmet aangevoerde koppels.

Resultaten blindedarmmonsters per slachterij

Figuur 3 toont de procentuele verdeling van het Campylobacterniveau bij de aanvoer per slachterij.

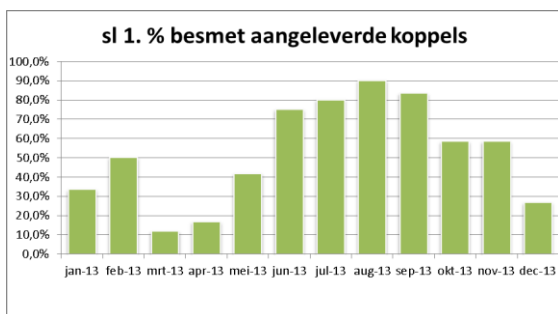
Figuur 3: Weergave procentuele verdeling van de besmet aangevoerde koppels onderverdeeld naar de 16 vleeskuikenslachterijen



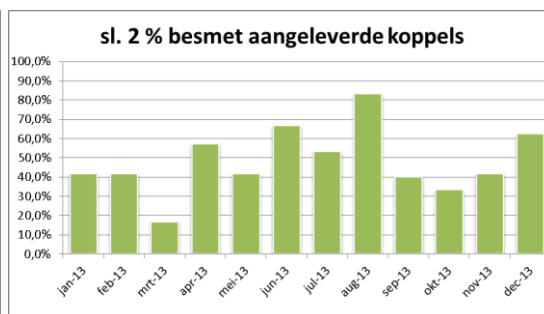
In de bovenstaande figuur is weergegeven dat het percentage besmet aangevoerde koppels tussen de verschillende vleeskuikenslachterijen sterk kan verschillen. Zo is er een range van 27% besmet aangevoerd (slachterij 5) tot 90% besmet aangevoerd (slachterij 13).

In de onderstaande figuren 4 tot en met 19 valt per slachterij per maand af te lezen welk percentage van de aangevoerde koppels Campylobacter (hoog) besmet was Campylobacter.

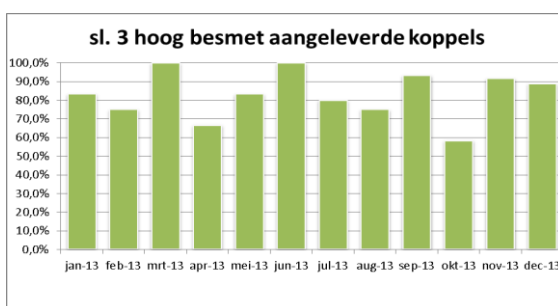
Figuur 4



Figuur 5



Figuur 6



Figuur 7



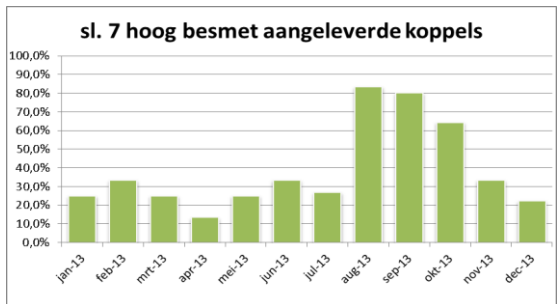
Figuur 8



Figuur 9



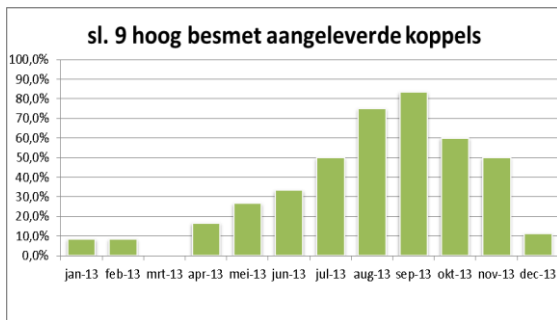
Figuur 10



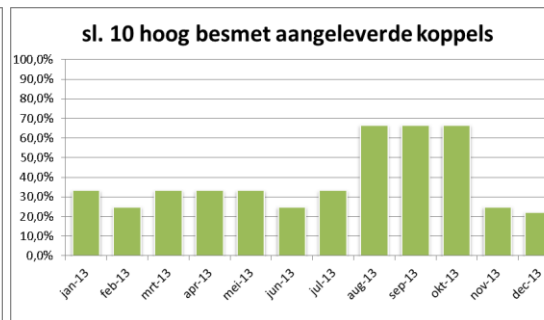
Figuur 11



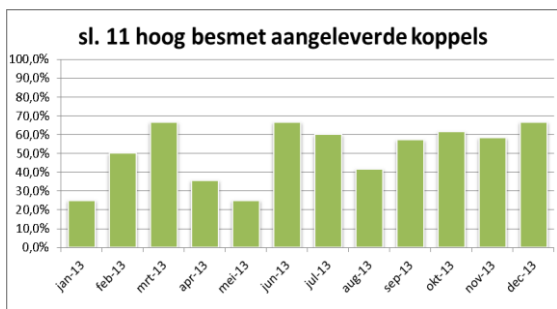
Figuur 12



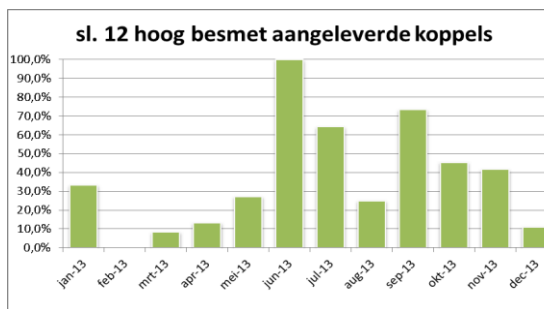
Figuur 13



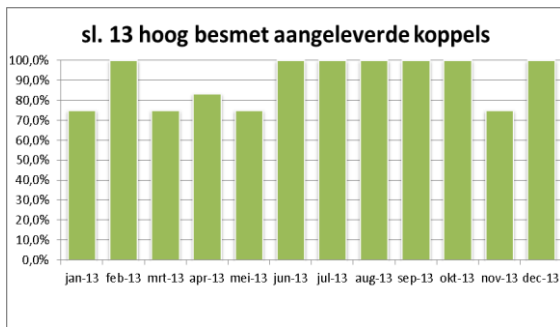
Figuur 14



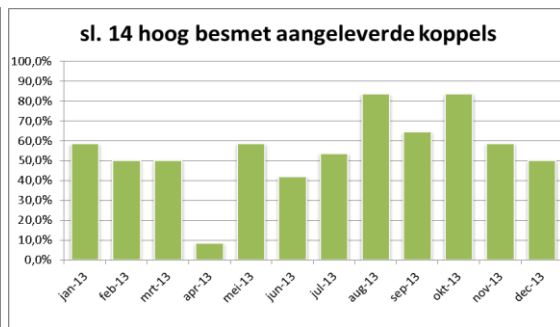
Figuur 15



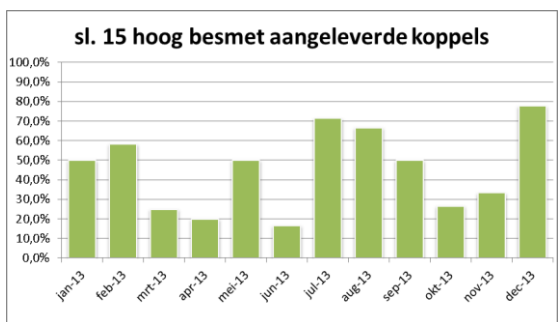
Figuur 16



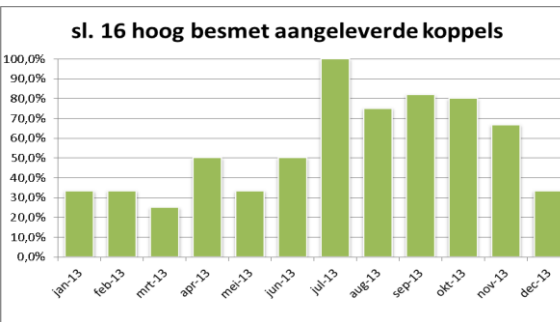
Figuur 17



Figuur 18



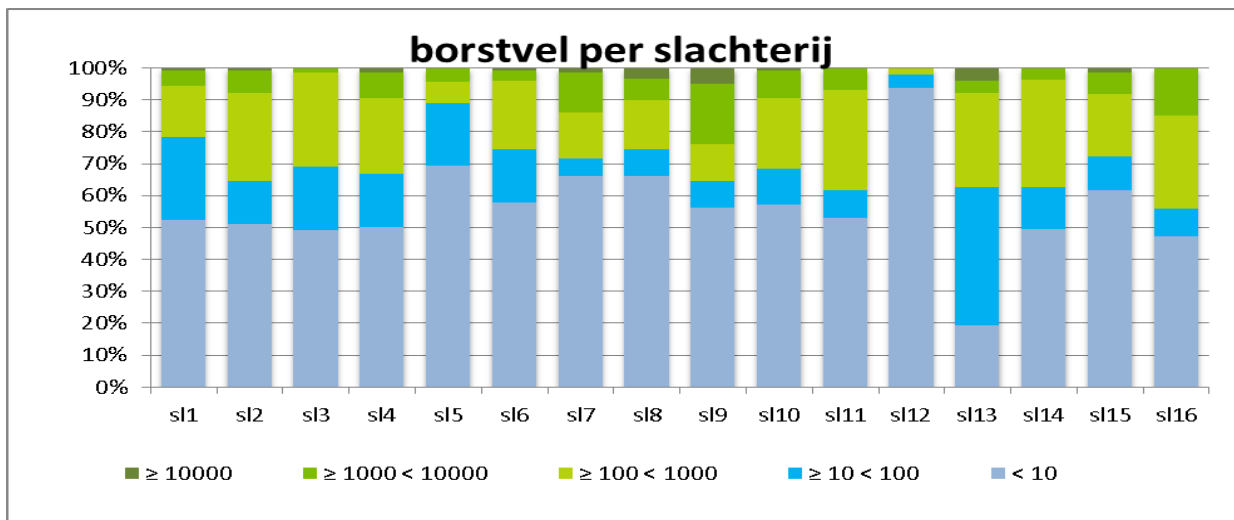
Figuur 19



Resultaten borstvelmonsters pluimveeslachterijen: per slachterij per maand

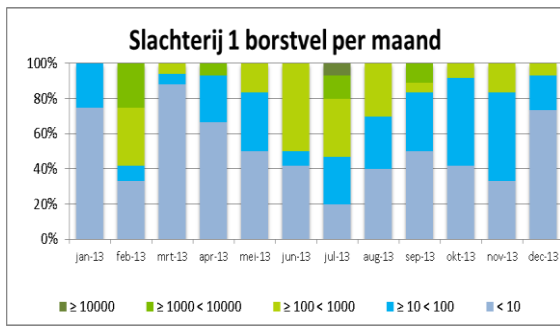
Figuur 20 toont de procentuele verdeling van Campylobacter in borstvel over 2013 per slachterij.

Figuur 20. De procentuele verdeling Campylobacter in borstvel van de categorieën $x < 10$, $10 \leq x < 100$, $100 \leq x < 1.000$, $1.000 \leq x < 10.000$ en $x \geq 10.000$ kve/gram per vleeskuikenslachterij in 2013.

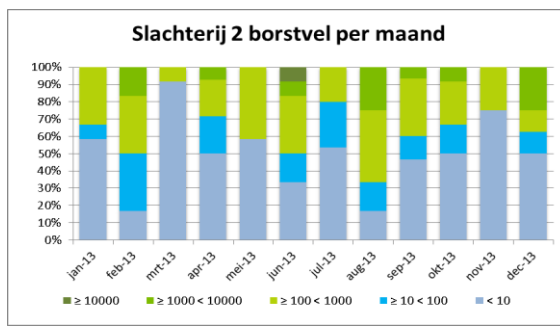


Om een beter inzicht te krijgen in de variatie van Campylobacterwaarden tussen slachterijen zijn in de figuren 21 t/m 36 de resultaten per vleeskuikenslachterij per maand weergegeven.

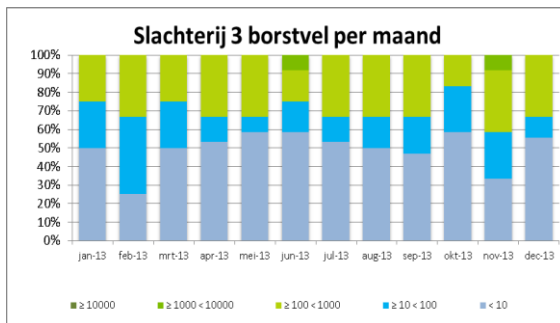
Figuur 21



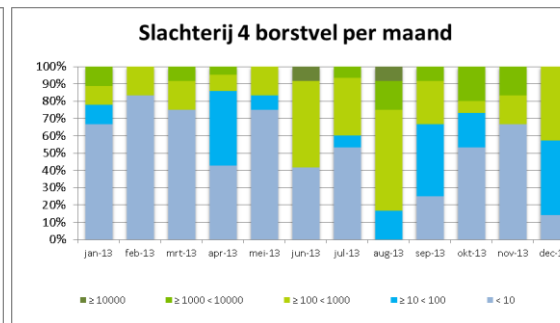
Figuur 22



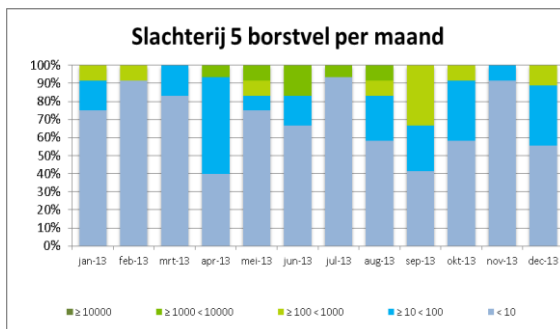
Figuur 23



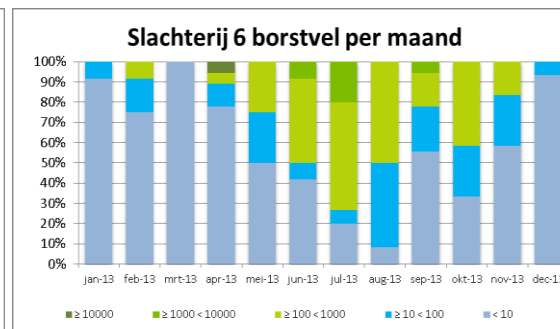
Figuur 24



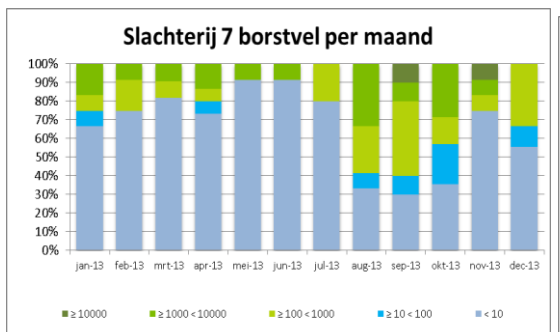
Figuur 25



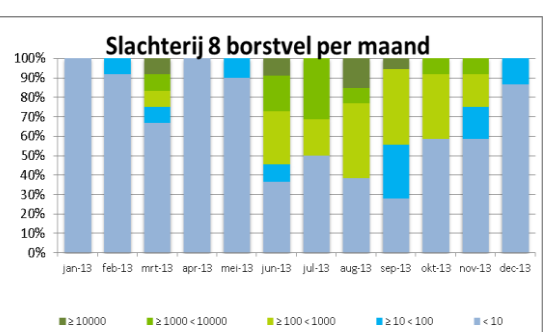
Figuur 26



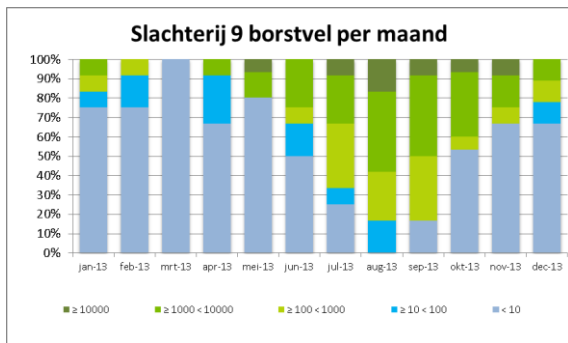
Figuur 27



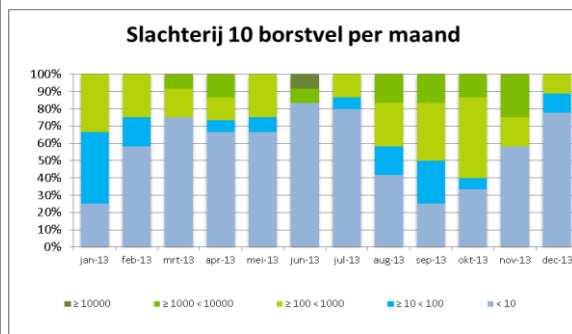
Figuur 28



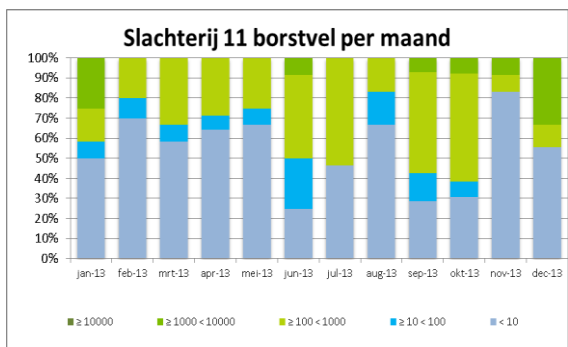
Figuur 29



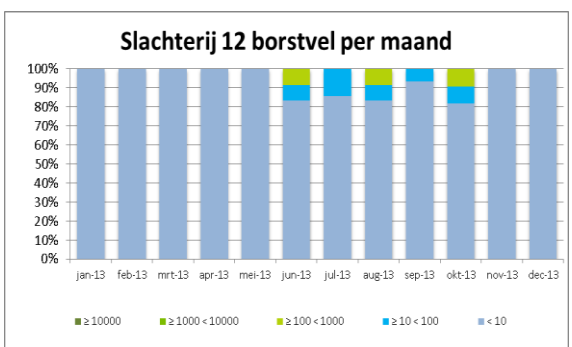
Figuur 30



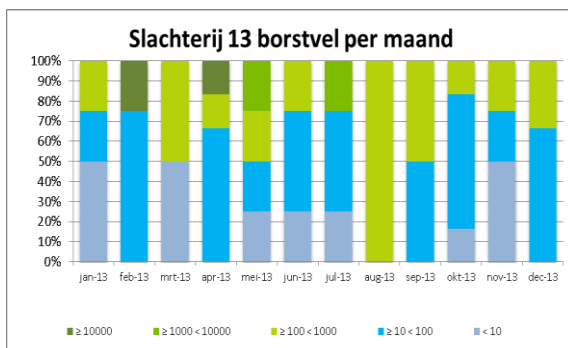
Figuur 31



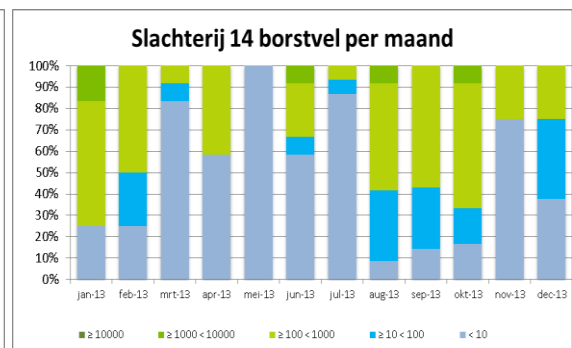
Figuur 32



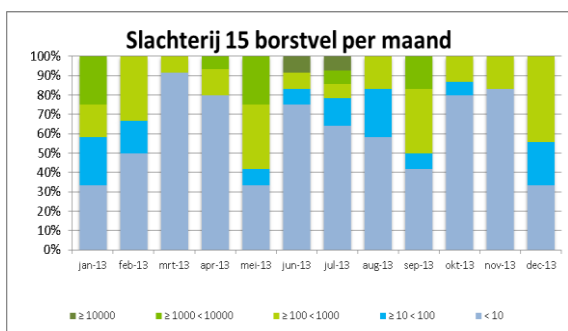
Figuur 33



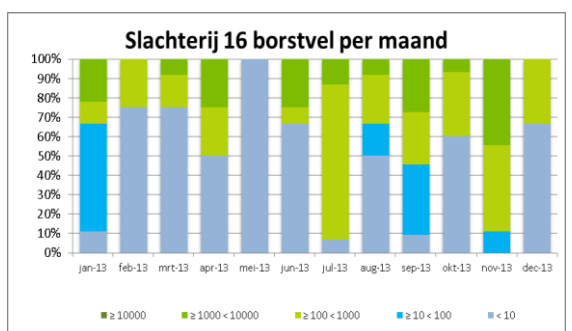
Figuur 34



Figuur 35



Figuur 36



Uit de grafieken 21 tot en met 36 is te zien dat er, op enkele slachterijen na, redelijk overeenkomstige waarden worden gevonden op de bemonsterde borstvelen bij de vleeskuikenslachterijen. Slachterij 9 laat minder goede resultaten zien. Met deze slachterij is een intensiever traject ingezet. Sommigen slachterijen (zoals slachterij 3 en 12) hebben in de eerste twee Convenants perioden verbetertrajecten doorgevoerd. Sindsdien is het Campylobacterniveau op de genomen monsters gereduceerd, wat ook is terug te zien in de resultaten van de monsters van 2013.

Resultaten borstvelmonsters per slachterij i.r.t. al dan niet besmet aangevoerde koppels

In figuur 37 wordt per vleeskuikenslachterij weergegeven hoe hoog in 2013 het percentage borstvel is met een waarde boven 1.000 kve/gram.

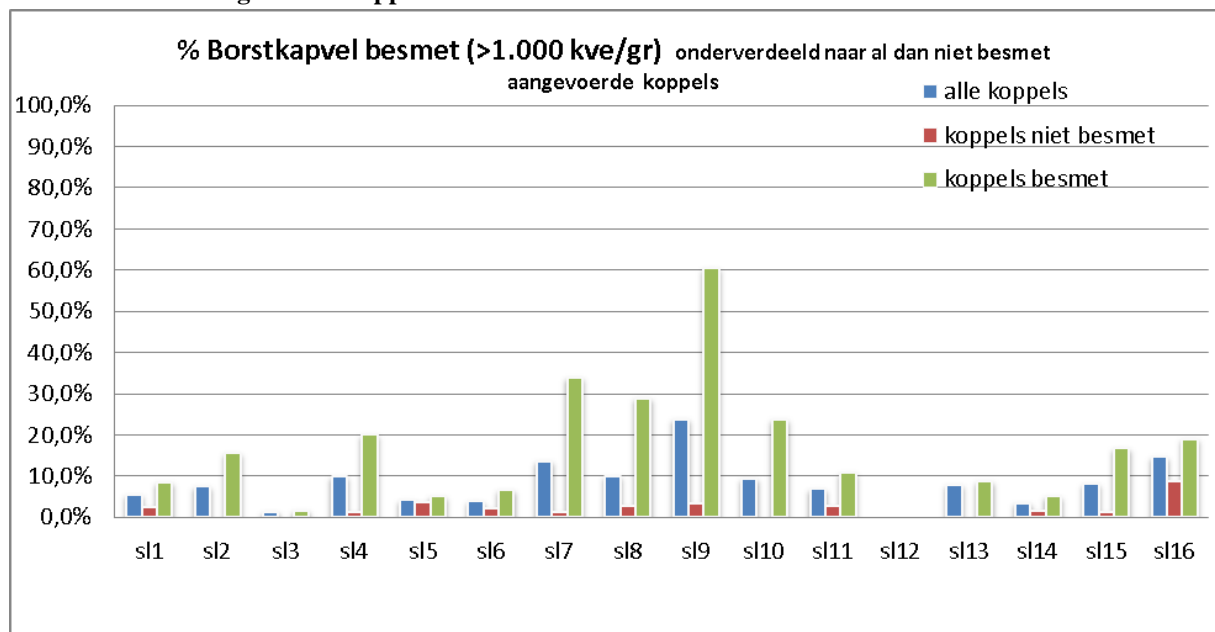
Dit is weergegeven voor:

Blauw: alle koppels

Rood: alleen de niet besmet aangevoerde koppels (blindedarm <10.000 kve/gram)

Groen: alleen de wel besmet aangevoerde koppels (blindedarm >10.000 kve/gram)

Figuur 37: Weergave % borstvel van de vleeskuikenslachterijen >1.000 kve/gram onderverdeeld naar al dan niet besmet aangevoerde koppels



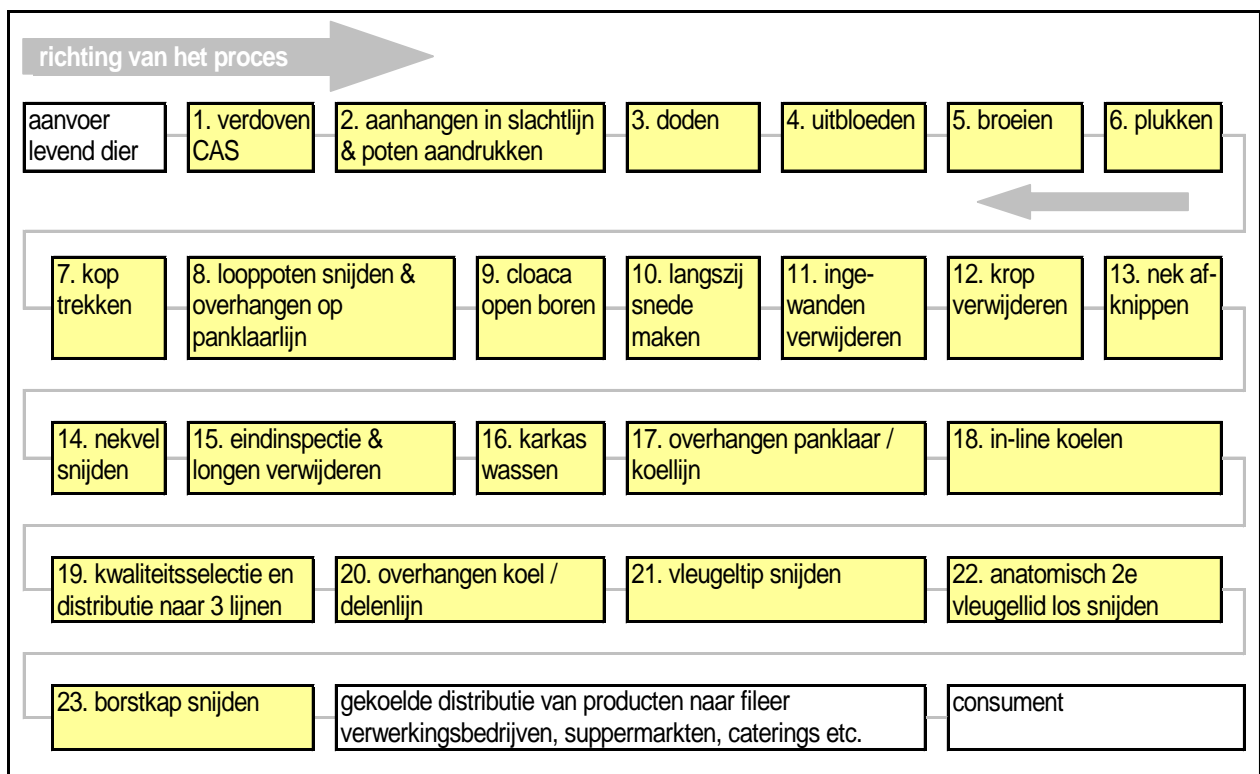
Figuur 37 laat zien dat er tussen de slachterijen verschillen zijn tussen het percentage borstkapvelmonsters boven de 1.000 kve/gram, onderverdeeld naar al dan niet besmet aangevoerde koppels. Over het algemeen kan gesteld worden dat slachterij 9 relatief vaak een borstvel heeft boven de 1.000 kve/gram, die met name afkomstig zijn van besmet aangevoerde koppels. Slachterij 16 heeft relatief vaak een borstvel boven de 1.000 kve/gram van koppels die niet besmet worden aangevoerd. Bij slachterij 12 is geen borstvel met meer dan 1.000 kve/gram gevonden.

In dit rapport worden bovenstaande gegevens niet verder uitgesplitst in resultaten per slachterij per maand. Een dergelijke onderverdeling per slachterij per maand kan door het geringe aantal monsters zeer wisselende resultaten laten zien die geen extra inzicht geven⁴.

Resultaten risicoanalyse procespunten slachterijen

Om het Campylobacterniveau in een slachterij te kunnen reduceren is het van belang om na te gaan welke processtappen binnen een slachterij worden gehanteerd. In figuur 38 worden de processtappen van een vleeskuikenslachterij weergegeven.

Figuur 38. Kritische stappen in de slachterij.



De weergegeven processtappen kunnen in 5 hoofdprocessen worden ingedeeld:

Broeien

Broeien is het proces waarbij de veren worden losgeweekt om het plukken mogelijk te maken. Over het algemeen kan gesteld worden dat broeien een reducerend effect heeft op het Campylobacterniveau (Nauta, Reitsma, Evers, Van Pelt en Havelaar, 2005). Broeien kan plaatsvinden door onderdompeling in heet water ($52^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, laag broei, tot $58^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, hoog broei). Een voordeel van hoogbroei is dat het aantal Campylobacterbacteriën afneemt

⁴ Zo kan het voorkomen dat een slachterij slechts één niet besmet (of één besmet) koppel bemonsterd in een maand en dat net van dit koppel een borstvel met een waarde boven de 1.000 kve/gram wordt verkregen. Dit zou betekenen dat in die maand 100% van de niet besmet (of besmet) aangevoerde koppels borstvelen heeft met waarden boven de 1.000 kve/gram

vanwege de hoge temperatuur. Een nadeel is dat er meer beschadiging/verandering optreedt van de huid, omdat bij dit proces de epidermis gedeeltelijk verwijderd wordt. Dit zou kunnen resulteren in het hechten van de bacteriën aan de beschadigde huid.

Plukken

Het kuiken komt vervolgens in de plukstraat waar de veren worden verwijderd. In de plukstraat zijn plukintensiteit (de kracht waar mee de plukvingers slaan) en de spoelintensiteit (hoeveelheid, temperatuur en druk van het spoelwater) van belang. Bij verkeerde afstelling kan er mest uit de karkassen geslagen worden en achterblijven op de karkassen en in de machine. Plukken wordt gezien als een cruciaal proces in de beheersing van *Campylobacter*. Tijdens het plukken is het belangrijk dat er goed gewassen wordt om mogelijke bezoedeling van zowel het karkas als de machine weg te spoelen.

Panklaar maken

Een volgend aandachtspunt in het proces betreft de panklaarafdeling. Hier worden de karkassen open gemaakt met behulp van een cloacaboer, waarna nog een extra langs zij snede volgt om vervolgens de ingewanden te verwijderen. Op deze afdeling worden verder de organen verwijderd en ondergaan de karkassen zelf diverse wasstappen (binnenbuitenwasser) om losse deeltjes en eventuele bezoedeling af te spoelen. Instellingen die geoptimaliseerd kunnen worden, zijn het aantal wasstappen, de hoeveelheid water, de richting waarin gespreid wordt en de kracht waarmee het wordt gedaan.

Koelen

Koelen vindt vaak plaats in combinatie met waterverneveling hetgeen beschermend kan werken voor de reeds aanwezige bacteriën. Luchtkoeling zou juist kunnen zorgen voor uitdroging en daardoor afdoding van *Campylobacters*. Het zou bijvoorbeeld ook kunnen zijn dat een bepaalde vorm van dompelkoeling een gunstig effect heeft op het *Campylobacter* aantal, omdat het aantal bacteriën daalt door intensiever koelen (in combinatie met spoelen).

Opdelen van het karkas

De volgende stap in het slachtproces is het opdelen van het karkas in de delenlijn wat met verschillende type snijlijnen kan plaatsvinden. Aspecten die van invloed zijn op het *Campylobacter*niveau op kippenvlees zijn de reiniging en ontsmetting van machines en de hygiënische werkwijze van het personeel tijdens het opdelen van het karkas (Sampers et. Al., 2010).

Uit de convenantsperioden is gebleken dat het lastig is om het *Campylobacter*niveau op slachterijen, door middel van aanpassingen in processtappen, te reduceren. Desalniettemin zijn inspanningen verricht om verbeteringen in het proces door te voeren. Zo zijn overleggen met de kwaliteitsmanagers van slachterijen gevoerd en is een document opgesteld (zie bijlage 3) en verspreid waarin staat beschreven welke processtappen geoptimaliseerd kunnen worden om het *Campylobacter*niveau te reduceren. Daarnaast is in 2013 onderzoek verricht naar het effect van bepaalde interventie maatregelen die in de slachterij doorgevoerd kunnen worden. Het volgende hoofdstuk gaat hier nader op in.

Discussie

Elke extra levensdag voor een dier kan gezien worden als een (extra) kans op insleep van *Campylobacter*. Gerwe et al. (2005) stellen dat als er eenmaal *Campylobacter* in het koppel aanwezig is de *Campylobacter*besmetting, naarmate het aantal dagen verstrijkt, snel oploopt. De *Campylobacter*besmetting van een koppel vleeskuikens van 20.000 dieren kan binnen 6 dagen stijgen van 5% naar 95%. Pluimvee heeft een hogere kans op *Campylobacter*besmetting, naarmate het mogelijkheden heeft tot uitloop naar buiten; het heeft een grotere kans om in aanraking te komen met transmissieroutes zoals bijvoorbeeld oppervlaktewater en besmetting via wilde vogels (Rodenburg, van der Hulst-Arkel en Kwakkel, 2004; Rodenburg, van der Hulst-Arkel, Kwakkel en Kijlstra, 2004). Rosenquist, Boysen, Krogh, Nygaard Jensen en Nauta (2013) stellen dat het risico op *Campylobacteriosis* door biologisch pluimveevlees 1,7 keer zo hoog is t.o.v. gangbaar pluimveevlees.

De gegevens uit dit onderzoek bevestigen dat hoe langer pluimvee leeft, hoe vaker het *Campylobacter* positief is. Het aangevoerde pluimvee is het vaakst besmet bij slachterij 13. Deze slachterij slacht kuikens met een langere leefperiode die beschikking hebben over uitloop. Ook slachterij 16, die over het algemeen zware kuikens slacht die een langere leefperiode hebben, heeft relatief veel besmet aangevoerde koppels.

Het marktaandeel van marktconcepten met pluimvee dat beschikt over een langere leefperiode en uitloop, groeit. In dit kader moet rekening worden gehouden met een toename van het aantal *Campylobacter* positieve koppels.

Uit de resultaten blijkt verder dat er minder vaak een *Campylobacter*waarde boven de 1.000 kve/gram op het borstvel wordt gevonden bij niet besmet aangevoerde koppels in vergelijking met besmet aangevoerde koppels. Pasquali, Cesare, Manfreda en Franchini (2011, p.5) geven in het verlengde van deze resultaten aan dat *“de reductie van de Campylobacter prevalentie in pluimveekoppels een van de meest effectieve manieren is voor het verminderen van de Campylobacterbesmetting op pluimveevlees en het aantal humane Campylobacter ziektegevallen.”* Om het *Campylobacter*niveau op het eindproduct te reduceren, is het van belang dat er voor pluimveehouderijen toepasbare interventie maatregelen beschikbaar zijn om het aantal besmette koppels te reduceren.

Mogelijkheden reductie primaire sector

Het weren van vliegen, het ontwikkelen van vaccinaties en faagtherapie, het toevoegen van bepaalde componenten aan voer en/of water, het hanteren van de optimale nuchtertijd en het op een juiste wijze van uitladen zijn maatregelen die in de literatuur worden genoemd die bij kunnen dragen om het aantal *Campylobacter* positieve koppels in de primaire sector te minimaliseren.

Het weren van vliegen in de pluimveestall kan ervoor zorgen dat insleep van *Campylobacter* naar pluimvee wordt voorkomen (Pasquali, De cesare, Manfreda, Franchini, 2011). Hald et. Al (in EFSA, 2011) hebben onderzoek gedaan naar het weren van vliegen en pluimveestallen

ingedeeld in een studiegroep en een controlegroep, waarbij het *Campylobacter* besmettingspercentage tussen deze groepen, de drie jaren vooraf aan het experiment, nagenoeg gelijk was (51,6% respectievelijk 51,7%). De stallen die behoorden tot de studiegroep werden afgedicht met vliegenwerende netten, terwijl dit niet gebeurde bij de stallen uit de controlegroep. Uit het onderzoek blijkt dat op het moment dat de koppels werden geladen voor de slacht, het *Campylobacter* besmettingspercentage van de koppels uit de studiegroep 7,7 % was, terwijl dit bij koppels uit de controlegroep 45,5% was. In een ander onderzoek, met een looptijd van zeven jaar, uitgevoerd bij een tiental Deense vleeskuikenbedrijven, is aangetoond dat het percentage positieve koppels daalt van 41,4% naar 10,3% door het plaatsen van vliegenwerende netten in pluimveestallen (Bahrdorff, Rangstrup-Christensen, Nordentoft en Hald, 2013). Hierbij stellen de onderzoekers dat het aantal positieve koppels in Denemarken in de zomer met 77% zou dalen als elke vleeskuikenhouder vliegenwerende netten zou implementeren. De gevonden data geeft aan dat *“vliegen verantwoordelijk zijn voor een groot deel in de Campylobacter positieve status van vleeskuiken koppels”*. Dit is mede te verklaren door dat er meer dan 30.000 in- en uitgaande “vluchten” van vliegen plaatsvinden per productieronde in een stal (Wagenaar, French en Havelaar, 2013). Het verrichten van vervolgonderzoek naar implementatie van vliegenwerende maatregelen in de Nederlandse sector is sterk aan te raden en kan in 2014 in het kader van de topsectoren verricht worden.

Bacteriofagen zijn voor de mens niet en voor bacteriën wel schadelijke virussen. Er zijn bacteriofagen bekend die *Campylobacter* kunnen inactiveren. Bacteriofagen reduceren het *Campylobacter* niveau met maximaal 5 log (Pasquali, Cesare, Manfreda & Manchini, 2011). Gezien de A) relatief hoge kosten door het gebruik van bacteriofagen, B) de verschillende typen bacteriofagen die nodig zijn voor de verschillende typen *Campylobacter* en C) het gegeven dat het nog onbekend is of de algemene *Campylobacter* populatie resistent kan worden voor bacteriofagen bij routinematig gebruik op het pluimveebedrijf (Havelaar et.al., 2005), is het gebruik op grote schaal van bacteriofagen (nog) geen gangbare praktijk.

Er zijn diverse onderzoeken verricht naar de toevoeging van organische zuren aan voer en/of water in relatie tot het *Campylobacter* niveau bij vleeskuikens (Pasquali, De cesare, Manfreda, Franchini, 2011; EFSA, 2011). Al met al wordt in het EFSA rapport (2011, p.31) geconcludeerd dat *“de resultaten van het toevoegen van organische zuren aan voer of water over de effectiviteit hiervan op Campylobacter inconsistent zijn”*.

Om het effect van het toedienen van organische zuren, en de ontwikkeling van een geschikt vaccin tegen *Campylobacter* nader te onderzoeken, neemt NEPLUVI samen met andere buitenlandse brancheorganisaties en onderzoeksinstituten deel aan het Europese project CAMPYBRO, dat loopt van 2013 tot en met 2016. In het project zal het effect van het toedienen van een combinatie van verschillende producten zoals plant extracten, organische zuren, prebiotica, en probiotica aan het voer onderzocht worden. Tevens richt het project zich op de ontwikkeling van een nieuw vaccin. Deze twee interventie maatregelen worden, nadat ze succesvol op laboratoriumschaal zijn getest, ook bij Nederlandse pluimveehouderijen in de praktijk getest.

In de praktijk komt het voor dat uitlaadkoppels minder nuchter worden aangevoerd dan wegladkoppels. De onthouding van voer dient idealiter tussen de 8 en 12 uur voor de slacht plaats te vinden.

Uitladen kan leiden tot een stijging van het Campylobacterniveau (EFSA, 2011; DTU report, 2007). Dit zou met name voorkomen als veel mensen in de stal komen en deze mensen stress veroorzaken bij het pluimvee. Het negatieve effect van uitladen kan worden gereduceerd als er voldoende hygiënische voorzorgsmaatregelen worden genomen (DTU report, 2007).

Mogelijkheden reductie slachterij

Het streven van de slachterijen is er op gericht het niveau op het eindproduct zo laag mogelijk te krijgen. Evenals bij de twee Convenanten Campylobacter komt ook uit de resultaten van 2013 naar voren dat er bij vleeskuikens sprake is van een seizoenseffect. Zowel de waarden van de blindedarm (status aangevoerde koppels) als voor borstvel (niveau eindproduct) laten een stijging zien in de zomer.

De afgelopen jaren hebben diverse slachterijen grote reducties weten te bewerkstelligen door de processtappen in de slachterij te optimaliseren of te vernieuwen. Om het Campylobacter niveau nog verder te kunnen verlagen dienen er nieuwe handvatten voor interventie maatregelen te komen.

Hoewel het effect van vrieskoude in de koellijn minder groot is dan het effect van langdurig invriezen, zou er bij kortstondig aanvriezen wel sprake zijn van een reducerend effect op het Campylobacterniveau (Clements, 2011; Havelaar et. al.; 2005). In 2013 is er door het CVI in het kader van de topsectoren onderzoek gedaan naar het effect van het kortstondig aanvriezen van borstkappen middels droge lucht in een vrieskamer, waar ze ongeveer 10 min. met een temperatuur van -40 graden verbleven. Borstkappen van positief aangevoerde koppels zijn bemonsterd op Campylobacter voordat de kappen de “vrieskamer” in gingen, nadat ze hier één keer en nadat ze hier twee keer doorheen zijn gegaan. Uit de resultaten blijkt dat deze wijze van aanvriezen geen reducerend effect heeft op Campylobacter. In het Verenigd Koninkrijk is gebleken dat het toedienen van vloeibare stikstof op pluimveekarkassen middels een spray, voor de duur van 20 seconden, meer dan een log reductie geeft voor Campylobacter (Burfoot, Mulvey, Allen, Howell, 2013). Het is interessant om het effect van deze techniek nauwkeurig in de gaten te houden en mogelijk te onderzoeken bij Nederlandse slachterijen.

In 2013 heeft het CVI in het kader van de topsectoren ook onderzoek verricht naar het effect van de reinigingstechniek Undine op Campylobacter in de Nederlandse slachterijen. Undine is een reinigingstechniek waarbij water onder zeer hoge (lucht)druk op producten wordt gespoten. Bij een Nederlandse pluimveeslachterij zijn in de periode augustus-november 2013 op diverse plekken in de slachtlijn (na de plukkers, na de kropverwijderaar en voor en na de binnen/buiten wasser) Undine units geplaatst om pluimveekarkassen te reinigen. Deze units konden (op de binnen/buiten wasser na) handmatig uit- en aangezet worden om hiermee het effect van de behandelingen te bepalen op de eindproducten van Campylobacter positief

aangevoerde koppels. Uit de resultaten blijkt dat de Undine behandelingen geen reducerend effect hebben op het Campylobacterniveau op het eindproduct.

Bronnen en transmissie onderzoek

Er kunnen vraagtekens gezet worden of (het eten van) pluimveevlees wel zo'n belangrijke factor is voor Campylobacterioses bij de mens. Diverse onderzoeken tonen aan dat een aanzienlijk percentage van de Campylobacterbesmettingen is terug te leiden tot bij pluimvee voorkomende Campylobacterstammen, maar dat zegt nog niets over de relatie met de consumptie van pluimveevlees. Andere transmissieroutes dan de consumptie van kippenvlees, zoals via de lucht of via besmette vliegen, dragen bij aan de verspreiding van Campylobacter (Jonsson, Heier, Norstrom en Hofshagen, 2010). Onderzoek van de EFSA bevestigt dit en stelt dat (EFSA, 2010, p.2): *”bereiding en consumptie van kippenvlees is verantwoordelijk voor 20 tot 30% van de humane Campylobacterbesmettingen, terwijl 50 tot 80% toegeschreven kan worden aan pluimvee in zijn algemeenheid...Campylobacter gerelateerde pluimveestammen kunnen mensen bereiken door transmissieroutes buiten de consumptie en bereiding van voedsel (bijv. via de lucht of bij direct contact). “*

Om een goed beeld te krijgen van welke bronnen en transmissieroutes voor welk aandeel verantwoordelijk zijn in de Campylobacteroverdracht is nader onderzoek nodig. Onderzoekers van het RIVM hebben gegevens over het aantal Campylobacter ziektegevallen vergeleken met verkoop van kip in de periode toen er in 2003 Hoog Pathogene Aviaire Influenza in Nederland heerste (Van Pelt, Havelaar, Westra en Wagenaar). Hieruit bleek dat er een verband is tussen de vleesconsumptie en het aantal ziektegevallen. De afname in ziektegevallen bij de mens is echter veel sterker dan uit de afname van kipconsumptie kan worden verklaard en houdt ook langer aan. Nadere analyse van de data en de extreme daling in het gebied waarin ook de ruiming plaats hebben gevonden, zijn een sterke aanwijzing voor een andere oorzaak voor de ziektegevallen bij de mens dan de consumptie van kip. Het afwezig zijn van besmet (leg)pluimvee in het betreffende gebied lijkt in deze een voorname factor te zijn voor de afname van ziekte incidenten bij de mens. Hieruit blijkt dat er, buiten de consumptie van pluimveevlees, andere infectieroutes voor Campylobacteroverdracht van pluimvee naar mensen van belang zijn (CARMA, 2005; EFSA, 2010).

Norm voor Campylobacter

Op 16 december 2013 hebben staatssecretaris Dijkma van het ministerie van Economische Zaken en minister Schippers van het ministerie van Volksgezondheid, Welzijn en Sport een brief naar de Tweede Kamer gestuurd over de aanpak van Campylobacter op vers kippenvlees. In de brief is opgenomen dat Nederlandse kippenslachterijen in 2014 een privaat Proces Hygiëne Criterium (PHC) zullen opnemen. Een PHC betekent niet dat er geen vlees met waarden verhandeld mogen worden als het criterium is “overschreden”, maar dat de slachterijen hun slachtproces op hygiënisch vlak moeten verbeteren als er (stelselmatige) overschrijding is van het criterium. In de Tweede Kamer brief is opgenomen dat het private criterium geldt voor Nederlandse vleeskuikenslachterijen én voor de (buitenlandse)

leveranciers aan de Nederlandse supermarkten (die het criterium in hun gehanteerde voedselveiligheidssysteem moeten opnemen), met als doel dat ook het uit buitenland geïmporteerd vlees dat in de Nederlandse schappen ligt aan de norm voldoet.

Op lange termijn zou een wettelijk Proces Hygiëne Criterium voor Campylobacter kunnen gelden. Mochten er wettelijke normen gesteld gaan worden, dan is het van belang om dit Europees in te regelen, zodat het voor elk Europese lidstaat geldt en er een Level Playing Field is op de interne Europese markt.

Indien er een wettelijk criterium voor Campylobacter wordt gesteld, moet in het achterhoofd worden gehouden dat lage prevalenties kunnen leiden tot een verhoogde immuniteit en dus niet ongewenst hoeven te zijn (Swart, Tomasi, Kretzschmar, Havelaar en Diekman; 2012). De hoge prevalenties vormen de hoogste risico's op Campylobacteriosis (Nauta, Jacobs-Reitsma, Evers, Van Pelt, Havelaar, 2005). Ook moet het werken met een eventueel criterium praktisch haalbaar zijn voor de Europese lidstaten.

Om Campylobacter te beheersen, is het van belang dat er mogelijkheden zijn om dit vorm te geven. Het aangaan van een onderzoeksprogramma tussen de overheid, het bedrijfsleven en onderzoeksinstituten (wat in 2013 in het kader van de topsectoren is gebeurd) om hier voor in de primaire sector en de verwerkende industrie handvatten voor te genereren, is noodzakelijk en moet gecontinueerd worden.

Conclusie

Aangezien met name de hoge prevalenties een risico vormen voor Campylobacteriosis bij de mens, is het van belang om met name de waarden boven de 1.000 kve/gram (verder) te reduceren. Het niveau van Campylobacter op borstvel ligt in 2013 in 92,0% van de monsters onder de 1.000 kve/gram.

De producten die voortkomen uit besmet aangevoerde koppels bevatten meer Campylobacter bacteriën in vergelijking met producten afkomstig van niet besmet aangevoerde koppels. Er ligt een uitdaging bij de pluimveehouders (primaire sector) om zo weinig mogelijk besmette koppels af te leveren. Vervolgonderzoek in deze schakel, zoals de mogelijkheid om pluimveestallen in Nederland vliegenvrij te houden met behulp van bijvoorbeeld vliegenwerende netten, is cruciaal.

Hoewel er enkele slachterijen zijn die beneden of boven gemiddeld scoren zijn de verschillen tussen de meeste slachterijen beperkt. Eén slachterij laat structurele betere resultaten zien dan de andere slachterijen. Deze goed scorende resultaten lijken te maken te hebben met verbeteringen die zijn doorgevoerd in deze slachterij, hoewel andere slachterijen ook soortgelijke verbeteringen/vernieuwingen van apparatuur hebben doorgevoerd en geen dergelijk reducerend effect hebben weten te bewerkstelligen.

In 2013 is onderzoek verricht naar het effect van het toedienen van vrieskoude middels lucht op borstkappen en het effect van de reinigingstechniek Undine op pluimveekarkassen. Deze technieken blijken geen reducerend effect op Campylobacter te hebben. Er zijn helaas (nog) geen extra pasklare handvatten die geïmplementeerd kunnen worden in de slachterijen waardoor het Campylobacterniveau verder gereduceerd kan worden. Vervolgonderzoek hiernaar met onderzoekinstellingen en de overheid blijft noodzakelijk. Een voor de slachterijen mogelijk interessante maatregel is het toedienen van vloeibare stikstof op karkassen in de slachterijen.

Om uiteindelijk meer zekerheid over de daadwerkelijke bijdrage aan Campylobacterbesmetting bij de mens door de consumptie van kip (door onvoldoende keukenhygiëne) te verkrijgen, zal ook duidelijk moeten worden wat het risico is dat bepaald wordt door de overige infectieroutes en wat dus het belang is van andere (pluimvee)bronnen.

Het blijft van belang dat de consument goed met zijn keukenhygiëne omgaat om kruisbesmetting te voorkomen. Het garen van vlees zorgt er immers voor dat aanwezige Campylobacter bacteriën worden gedood.

Bijlage 1 Projectprotocol NRLC06

Projectprotocol NRLC06

(Hoofd) projectnaam : CONVENANT CAMPYLOBACTER VWS-NEPLUVI

(Deel) projectnaam : Telling Campylobacter in blinde darminhoud en borstvel van vleeskuikens, eenden en leghennen en in 3mm vlees van leghennen

Jaar : 2011/2012

Projectleider analyse : NRL Campylobacter
CVI-WUR, Ria van der Hulst-van Arkel

Doel:	Inventarisatie van de kwantitatieve besmettingsniveaus van pluimveevleesproducten afkomstig van de Nederlandse vleeskuiken-, eenden- en leghennenslachterijen gedurende een periode van 2 jaar.
Methode:	<ul style="list-style-type: none">• Bemonstering van blinde darminhoud en van vel van de borstkap van vleeskuikens in de Nederlandse vleeskuikenslachterijen• Bemonstering van blinde darminhoud, vers en bevroren vel van de borstkap van eenden in de Nederlandse eendenslachterijen• Bemonstering van blinde darminhoud, vers vel van de borstkas en bevroren vel/3mm vlees van leghennen in de Nederlandse leghennenslachterijen.• Telling van het aantal Campylobacter m.b.v. een van ISO 10272-2 afgeleide methodiek.

1. Monstername (voor slachterijen)

De vleeskuikenslachterijen bemonsteren per week drie koppels uit het midden van het koppel.

Bemonstering vindt plaats op maandagen of dinsdagen en de monsters worden op woensdag ingezet.

- Per koppel worden aselekt 10 blindedarmen verzameld in een af te sluiten zakje.
- Per koppel wordt, direct na de koeling, aselekt een karkas geselecteerd van hetzelfde koppel als waarvan de blinde darmmonsters zijn genomen. Het geselecteerde karkas is afkomstig uit "het

midden" van het koppel. Met behulp van steriel monsternamegereedschap wordt minimaal 25 gram vel van de borstkap genomen.

De eendenslachterijen bemonsteren per week drie koppels uit het midden van het koppel.

Bemonstering vindt plaats op maandagen of dinsdagen. De blindedarmmonsters en monsters van niet bevroren borstkapvel worden op de woensdag van dezelfde week ingezet. De bevroren monsters van borstkapvel blijven drie weken bevroren in de slachterij en worden daarna op woensdag ingezet in het lab. Dit betekent dat de eerste bevroren monsters in week 4 van 2011 bij het lab worden ingezet.

- Per koppel worden aselekt 10 blindedarmen verzameld in een af te sluiten zakje.
- Per koppel wordt, direct na de koeling, aselekt een karkas geselecteerd van hetzelfde koppel als waarvan de blinde darmmonsters zijn genomen. Het geselecteerde karkas is afkomstig uit "het midden" van het koppel. Met behulp van steriel monsternamegereedschap wordt minimaal 25 gram vel van de borstkap genomen.
- Per koppel wordt een borstkapvelmonster (25 gram van de borstkap) ingevroren voor drie weken en verpakt in een steriele zak. Het monster van het verse karkas, blindedarm en het monster van het ingevroren karkas moeten afkomstig zijn van hetzelfde koppel. Het ingevroren monster zal drie weken later (dan de blindedarm en niet bevroren borstkapvelmonster van het bijbehorende koppel) bij het betreffende lab worden ingezet.

Het is van belang dat de slachtdatum en het koppelnummer van de geanalyseerde ingevroren monsters overeenkomen met de bijbehorende blindedarm en niet bevroren monsters van drie weken daarvoor.

De leghennenslachterijen bemonsteren per week drie koppels uit het midden van het koppel.

Bemonstering vindt plaats op maandagen of dinsdagen en de monsters worden op woensdag ingezet. De blindedarmmonsters en monsters van niet bevroren borstkapvel worden op de woensdag van dezelfde week ingezet. De bevroren monsters van borstkapvel (of 3mm vlees) blijven drie weken bevroren in de slachterij en worden daarna op woensdag ingezet in het lab. Dit betekent dat de eerste bevroren monsters in week 4 van 2011 bij het lab worden ingezet.

- Per koppel worden aselekt 10 blindedarmen verzameld in een af te sluiten zakje.
- Per koppel wordt, direct na de koeling, aselekt een karkas geselecteerd van hetzelfde koppel als waarvan de blinde darmmonsters zijn genomen. Het geselecteerde karkas is afkomstig uit "het midden" van het koppel. Met behulp van steriel monsternamegereedschap wordt minimaal 25 gram vel van de borstkap genomen.
- Per koppel wordt na de productie van borstkap/3mm vlees aselekt een monster van minimaal 25 gram genomen, ingevroren voor drie weken en verpakt in een steriele zak. Het monster van het verse karkas, blindedarm en het monster van het ingevroren karkas/3mm vlees moeten afkomstig zijn van hetzelfde koppel. Het ingevroren monster zal drie weken later (dan de blindedarm en niet bevroren borstkapvelmonster van het bijbehorende koppel) bij het betreffende lab worden ingezet.

Het is van belang dat de slachtdatum en het koppelnummer van de geanalyseerde ingevroren monsters overeenkomen met de bijbehorende blindedarm en niet bevroren monsters van drie weken daarvoor.

De monsters worden direct na monstername teruggekoeld en bewaard en getransporteerd bij $2 \pm 2^{\circ}\text{C}$ (voorkom aanvriezen) en binnen 2 dagen in onderzoek genomen.

Bij uitsnijderijen worden door de VWA filetmonsters genomen van een koppel dat herleidbaar is naar een Nederlandse slachterij. De filetmonsters worden door de VWA geanalyseerd volgens protocol NRLC01.

2. Monstervoorbereiding (voor labs)

2.1. Blinde darm inhoud

Desinfecteer de buitenzijde van de blinde darm met alcohol. De gedesinfecteerde darmen worden op een schoon stuk aluminium, gelegd en op steriele wijze gelegegd in een steriele stomacherzak. De 10 blindedarmen worden gepooled tot 1 monster. Voeg 9 maal het gewicht gebufferd peptonwater (BPW) of pepton fysiologische zoutoplossing (PFZ) (op kamertemperatuur) toe en homogeniseer gedurende minimaal 1 min. m.b.v. een Stomacher, dit is de 10^{-1} verdunning.

2.2. Vel van de borstkap en 3mm vlees

Breng 25 ± 5 gram vel of 3mm vlees over in een steriele stomacherzak. Voeg 9 maal het gewicht gebufferd peptonwater (BPW) of pepton fysiologische zoutoplossing (PFZ) (op kamertemperatuur) toe en homogeniseer gedurende minimaal 1 min. m.b.v. een Stomacher. Schuimvorming dient te worden voorkomen door de lucht zoveel mogelijk uit de stomacherzak te verwijderen.

Dit is het 1:10 homogenisaat van het borstvel- of van het 3mm vleesmonster.

3. Monsteronderzoek (voor labs)

Kwantitatieve Campylobacter spp. bepaling (voor details over media en procedure: zie ISO 10272-2; voor de telling: zie ISO 7218).

Maak van het homogenisaat van het borstvelmonster en van het 3mm vleesmonster een decimale verdunning in BPW of PFZ.

Droog de te gebruiken mCCDA-platen (middellijn 9 cm)(BioTrading), bij voorkeur met het agaroppervlak naar beneden, in een stoof bij een temperatuur tussen 25°C en 50°C of in een veiligheidskabinet, tot de druppeltjes van het agaroppervlak zijn verdwenen.

Blinde darminhoud

Breng 0,1 ml van de 10^{-1} suspensie op een mCCDA-plaat en spatel uit. Dit is de 10^{-2} –verdunning van het monster. Maak een verdunningsreeks van 10^{-2} tot 10^{-6} en breng van elke verdunning 0,1 ml op een mCCDA-plaat (= totaal 6 platen, van 10^{-2} t/m 10^{-7}). Voer dit in enkelvoud uit.

Homogenisaat borstkap en 3mm vlees

Pipetteer van het homogenisaat 1 ml verdeeld over 3 goed gedroogde mCCDA-platen. Spatel de vloeistof uit over het agaroppervlak tot geen zichtbaar vocht meer aanwezig is. Dit is de 10^{-1} – verdunning van het monster. Voer dit in enkelvoud uit.

Breng vervolgens 0,1 ml op een mCCDA-plaat en spatel uit. Dit is de 10^{-2} – verdunning van het monster. Voer dit in enkelvoud uit.

Breng vervolgens 0,1 ml van een 10^{-2} verdunning van het homogenisaat op een mCCDA-plaat en spatel uit. Dit is de 10^{-3} – verdunning van het monster. Voer dit in enkelvoud uit.

Bebroed de mCCDA-platen bij 41,5°C in een microaërobe atmosfeer.

Tel na 20-30 uur de karakteristieke of verdachte kolonies en vervolg de incubatie in een microaërobe atmosfeer tot een totale incubatietijd van 44 ± 4 uur. Tel nogmaals het aantal karakteristieke of verdachte kolonies.

Tel vanaf 10 verdachte kolonies per plaat tot maximaal 150 kolonies per plaat.

Gebruik voor de berekening van het aantal *Campylobacter* de tellingen van de incubatietijd die het hoogste aantal goed telbare kolonies oplevert.

Bevestig een zodanig aantal karakteristieke en verdachte kolonies van de platen met minder dan 150 van deze kolonies, zodat een goede bepaling van het aantal *Campylobacter* in het monster mogelijk is.

Bevestig in totaal minimaal 5 kolonies (indien aanwezig), bijvoorkeur afkomstig van de hoogste verdunning van het monster.

Bevestiging

Voer zonodig eerst een reinstrijk uit op b.v. een bloedagarplaat, zodanig dat losliggende kolonies worden verkregen.

Voer de hierna genoemde bevestigingstesten uit met het bacteriemateriaal van losliggende kolonies van mCCDA-platen of bloedagarplaten.

Beoordeling morfologie en beweeglijkheid

Maak van de verdachte kolonie een hangende-druppel-preparaat of nat-preparaat en beoordeel met een fasecontrast of donkerveld microscoop (100x objectief) op de karakteristieke spiraalvormige morfologie en grote beweeglijkheid van *Campylobacter*.

Oxidasereactie

Ent met een entoog (anders dan van nikkel/chroom) vanaf de mCCDA-plaat een verdachte kolonie op een filtreerpapiertje bevochtigd met oxidase-reagens. Lees na maximaal 10 seconden de reactie af. De reactie is positief bij paarskleuring en negatief indien er geen verkleuring optreedt. Volg bij gebruik van commerciële oxidase-testen het voorschrift van de leverancier.

Latexagglutinatietest

Test koloniemateriaal van tenminste één verdachte kolonie per monster met een *Campylobacter* latexagglutinatietest volgens voorschrift van de fabrikant.

Resultaat

Campylobacter voldoet aan het volgende specifieke reactiepatroon.

Morfologie en beweeglijkheid	spiraal- en S-vormige, sterk beweeglijke staafjes
Oxidase	+
Latexagglutinatatie	+

Berekening van het *Campylobacter* kiemgetal

Neem voor het aantal karakteristieke of verdachte kolonies van de laagste verdunning het totaal van het aantal kolonies van de 3 platen.

Bereken het aantal N van *Campylobacter* aanwezig in het monster m.b.v. de volgende formule:

$$N = \frac{S \cdot BF}{(n_1 + 0,1 n_2) \cdot VF}$$

Wanneer er 3 verdunningen worden meegeteld, wordt de formule als volgt aangepast:

$$N = \frac{S \cdot BF}{(n_1 + 0,1 n_2 + 0,01 n_3) \cdot VF}$$

waarin:

N = het kiemgetal, in aantal kolonievormende eenheden (kve) per gram;

S = de som van de getelde kolonies;

n_1 = het aantal petrischalen met de laagste verdunning (=1);

n_2 = het aantal petrischalen met de hierop volgende tienvoudige verdunning (=1);

n_3 = het aantal petrischalen met de hierop volgende tienvoudige verdunning (=1);

VF = de massa (in gram) van het onverdunde monster dat aanwezig is in de petrischaal met de laagste verdunning (n_1) (=0,1 voor borstvelmonster en 3mm vleesmonster);

BF = de bevestigingsfactor: het aantal kolonies waarvan de identiteit bevestigd is, gedeeld door het aantal kolonies dat is onderzocht.

Rapportage van het onderzoeksresultaat

Bereken het aantal *Campylobacter* (kve) per gram blindedarminhoud, borstvel of 3mm vlees.

Kwaliteitsborging

- *Bepaling meetonzekerheid*

Bepaal de meetonzekerheid volgens voorschrift NRLC08.

- *Ringonderzoeken*

Deelname aan ringonderzoeken georganiseerd door het NRL *Campylobacter*.

Bijlage 2 NRLC09

(Hoofd) projectnaam : CONVENANT CAMPYLOBACTER VWS-NEPLUVI

(Deel) projectnaam : Kwaliteitsborging monsteronderzoek

Jaar : 2011/2012

Projectleider analyse : NRL Campylobacter
CVI-WUR, Ria van der Hulst-van Arkel

Doel:	Inventarisatie van de kwantitatieve besmettingsniveaus van pluimveevlees-, leghennen en eenden producten afkomstig van de Nederlandse slachterijen gedurende een periode van 2 jaar.
Methode:	Kwaliteitsborging van het onderzoek van monsters blinde darminhoud, borstvel en eindproducten van vleeskuikens, eenden en leghennen op aantallen Campylobacter d.m.v. beoordeling van de deelnemende laboratoria, referentie- en ringonderzoek.

1. Beoordeling

Inventarisatie door het NRL van de expertise van de deelnemende labs op het gebied van Campylobacter analyse en eerste beoordeling betreffende de competentie van de laboratoria voor uitvoering van deze analyse.

2. Instructie

Voorbespreking met de deelnemende labs (gezamenlijk of individueel), waarbij de details van de uit te voeren analyses worden toegelicht.

3. Referentieonderzoek

4 x per jaar wordt door het NRL referentiemateriaal geleverd. Wekelijks worden deze referentiemonsters door de labs ingezet tegelijkertijd met de bemonstering van de blinde darm en borstvel monsters voor het Convenant.

4. Ringonderzoek

Een ringonderzoek voor de deelnemende labs wordt georganiseerd door het NRL.

Bijlage 3 Handvatten voor reductie Campylobacter

Pluimveeslachterijen kunnen met behulp van dit document nagaan welke mogelijkheden er voor hen zijn om het Campylobacterniveau op het eindproduct te kunnen reduceren.

Algemeen:

-Uit de verzamelde data in het kader van het Tweede Convenant Campylobacter komt naar voren dat hoe langer pluimvee leeft, hoe groter de kans is dat zij is besmet met Campylobacter. Mocht u koppels op een dag slachten die verschillen in het aantal levensdagen, dan is het aan te raden om waar mogelijk eerst pluimvee te slachten met een kortere levensduur (gehouden in gangbare systemen) en daarna pluimvee te slachten dat langer heeft geleefd (tussensegment en biologisch). Eventuele kruiscontaminatie wordt hiermee voorkomen. Let op: Hierbij dient in ogenschouw genomen te worden dat stichting SKAL eist dat biologische producten op een gereinigde productielijn worden geslacht.

-Uit data van het Tweede Convenant Campylobacter blijkt dat er tussen slachterijen grote verschillen zijn in het besmettingspercentage van aangevoerde koppels. Uiteindelijk zal een continue aanvoer van niet besmette koppels leiden tot een Campylobactervrij eindproduct. Het kan lonen om na te gaan of er pluimveehouderijen zijn die structureel koppels voortbrengen die Campylobacter besmet zijn en om na te gaan welke maatregelen er zijn om dit te voorkomen.

-Het effect van uitladen kan (mede door stress bij kippen en de hygiënische gesteldheid van vangploegmedewerkers en materiaal) leiden tot een stijging van het Campylobacterniveau bij kippen.

-Om kruiscontaminatie bij de monsternamen te voorkomen is het van belang dat dit steriel gebeurt.

Proces in kaart brengen

Om na te gaan welke processtappen geoptimaliseerd kunnen worden is het van belang om bij elke (kritische) processtap in kaart te brengen wat het campylobacterniveau is van het product en hoe zich dit niveau verhoudt t.o.v. de vorige processtap. Hiermee kan nagegaan worden welke processtappen aandacht behoeven.

Mogelijke aandachtspunten in de slachtlijn:

Broeien:

- Optimaliseren/experimenteren (verhogen) broeitemperatuur
- Optimaliseren/experimenteren (getrapt) broeien
- Verhogen schoonmaakfrequentie
- Optimaliseren van het 's nachts schoonbroeien (met hoge temperatuur) van de tanks
- Dieren dienen helemaal verbloed te zijn voordat ze worden gebroeid.

Plukken:

Het is van belang om zo min mogelijk fecale bezoedeling in de plukstraat te krijgen, wat mede bewerkstelligd kan worden door:

- Het optimaal afstellen van de plukvingers (mogelijk verminderen plukkracht door verlengen plukstraat)
- Het optimaliseren van de spoelintensiteit en temperatuur van het water in plukkers
- Het afstemmen van de machines/plukvingers o.b.v. de aangeboden koppels
- Het regelmatig vervangen van de plukvingers

- Het voorkomen van ophoping van de veren
- Het inbouwen van een wasstap nadat de dieren zijn geplukt.

Panklaarlijn:

- Optimaliseren van de sproeistand, de werking en de waterdruk bij de gebruikte was stappen. Mogelijk inbouwen van een extra was stap/sproeikabinet.
- Nagaan intern reinigingssysteem voor diverse procestappen in de slachtlijn
- Optimaliseren afstelling (of zelfs vernieuwing) van uithaler, koppentrekker, kropverwijderaar, opensnijder en cloacaboer.

Koelen:

- Hoewel er geluiden zijn dat de wijze van koelen (nevel, combikoeling, droge lucht) van invloed is op het Campylobacterniveau, blijkt het lastig te zijn om hier gegronde uitspraken over te doen (o.b.v. de data uit het Tweede Convenant).

Opdelen karkas:

Voorkomen van kruisbesmetting door goede hygiene- en reinigingsprocedures (voor zowel machines als mens).

Reinigen en ontsmetten kratten:

Het optimaliseren van het reinigen en ontsmetten van de kratten kan resulteren in verminderde kruisbesmetting bij uitladen.

Schoonmaak:

Optimaliseren/verhogen van frequentie, temperatuur en waterkwaliteit bij schoonmaak van het machinepark kan bijdragen aan een vermindering van mogelijke kruisbesmetting.

Mogelijkheden voor slachterijen die nog nader onderzocht moeten worden:

Hittebehandeling:

Campylobacter is gevoelig voor hittebehandeling. Door het broeien blijkt het Campylobacterniveau te reduceren. Het is interessant om na te gaan wat het effect van (extra) hittebehandeling in de lijn is t.a.v. het Campylobacterniveau. Denk hierbij aan de implementatie van een korte nabroeimogelijkheid na het plukken of het introduceren van een vlam in de slachtlijn. Het is aan te bevelen dat hier in de toekomst mee wordt geëxperimenteerd.

Koudebehandeling:

Campylobacter is gevoelig voor koude behandeling. In de wetenschappelijke literatuur is naar voren gekomen dat het langdurig invriezen van pluimveevlees leidt tot een sterke reductie van het aantal Campylobacters. In het kader van de handelsnormen mag bevroren vlees niet meer als vers worden afgezet. Het voor een korte periode toedienen van koude aan het vlees is wellicht wel mogelijk. Hierbij kan gedacht worden aan het voor korte tijd (meermaals) toedienen van vrieskoude in de koellijn (crust freezing) of aan het implementeren van een "CO2 douche".

Nuchterheid pluimvee:

Mogelijk is er een positieve relatie tussen het niveau van (extreme) nuchterheid in pluimvee en het Campylobacterniveau op het eindproduct. Hierbij is de gedachte dat hoe meer voer er is opgenomen, hoe minder kans er is op fecale bezoedeling. Hierbij dient in ogenschouw

genomen te worden dat in de EU regelgeving is opgenomen dat er voor passend voeder en water bij pluimvee gezorgd moet worden, tenzij het transport korter duurt dan 12 uur (afgezien van de laad- en lostijden).

Bijlage 4 Literatuur

- Bahrndorff, S., Rangstrup-Christensen, L., Nordentoft, S., en Birthe Hald, B. Long-term Effect of Fly Screens on *Campylobacter* spp. Prevalence among Broiler Chickens. EID Journal, volume 19, number 3, march 2013.
- Bolder, N.M. & Lipman, L.J.A. Decontamineren van vleeskuikens in de praktijk. 26 /1/2006.
- Bolder, N.M. & Lipman, L.J.A. Het mag wel, maar het werkt niet. Pluimveehouderij, 2006, nr. 29.
- Burfoot, D., Mulvey, L., Allen, V. en Howell, M. *Efficacy, practicality, and costs of using intervention methods to reduce Campylobacter contamination on carcasses in poultry slaughterhouses*. Campden BRI, poster 283.
- Clements, M. *Campylobacter control during poultry slaughter and processing*. Poultry International, July 2011.
- Davis, M.A. en Conner, D.E. Survival of *Campylobacter jejuni* on Poultry Skin and Meat at Varying Temperatures. Poultry Science 2007; 86: 765-767.
- DTU Food Interventions to control *Campylobacter* in the broiler production. Report of an International Expert Consultation Copenhagen, Denmark, 26-27 November 2007.
- El-Shibiny A, Connerton P, Connerton I. Survival at refrigeration and freezing temperatures of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* on chicken skin applied as axenic and mixed inoculums. Int J Food Microbiol. 2009 May 31;131(2-3):197-202.
- European Food Safety Authority. Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Campylobacter* in broiler batches and of *Campylobacter* and *Salmonella* on broiler carcasses in the EU. EFSA Journal 2008; 8(05): 1503
- European Food Safety Authority. Scientific opinion on Quantification of the risk posed by broiler meat to human campylobacteriosis in the EU. EFSA Journal 2010; 8(1): 1437.
- European Food Safety Authority. Scientific opinion on campylobacter in broiler meat production: control options and performance objectives and/or targets at different stages of the food chain. EFSA Journal 2011; 9 (4):2105.
- Food Standards Agency, Proceedings of the international meeting on *Campylobacter* reduction in chicken. London, 2010.
- Franchin, P.R., Battistella, P.M.D. en Vieira, C.R. Evaluation of multi-sequential interventions with water to reduce microbial loading as applied to chicken carcasses during slaughtering – a review. World's poultry science journal, 2010, vol 66

- Gerwe, van T.J.W.M., Bouma, A., Jacobs-Reitsma, W.F., Van den Broek, J., Klinkenberg, D., Stegeman, J.A. en Heesterbeek, J.A.P. Quantifying transmission of campylobacter spp. Among broilers. Applied and environmental microbiology, oct. 2005, p. 5785-5770.
- Gezamenlijke nota van Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit en Ministerie van Volksgezondheid, Welzijn en Sport. Veilig voedsel voor iedereen; een gezamenlijke verantwoordelijkheid. Februari 2005.
- Guerin, M.T., Sir, C., Sargeant, J.M., Waddel, L., O'Conner, A.M., Wills, R.W., Bailey, R.H. en Byrd, J.A. The change in prevalence of Campylobacter on chicken carcasses during processing: A systematic review. 2010 Poultry Science, 89, pp. 1070-1084.
- Hänel C.M., Atanassova V. Impact of different storage factors on the survivability of *Campylobacter jejuni* in turkey meat. FEMS Immunol Med Microbiol. 2007 Feb;49(1):146-8.
- Havelaar A.H. en Nauta M., Een ketengerichte aanpak voor de beheersing van *Campylobacter* op kippenvlees. December 2005.
- Havelaar, A.H., Nauta, M.J., Mangen, M.J.J., de Koeijer, A.G., Bogaardt, M.J., Evers, E.G., Jacobs-Reitsma W.F., en van Pelt, W. Costs and benefits of controlling Campylobacter in the Netherlands. Integrating risk analysis, epidemiology and economics. RIVM report 250911009/2005.
- Jonsson, M.E., Heier, B.F., Norstrom, M. en Hofshagen, M. Analysis of simultaneous space-tiem clusters of Campylobacter spp. In humans and in broiler flocks using a multiple dataset approach. Internationale Journal of Health Geographics, 2010, 9:48.
- Nauta M.J., Jacobs-Reitsma W., Evers E.G., Van Pelt W., Havelaar A.H.. National Institute for Public Health and the Environment, Bilthoven, 2005. Report no. 250911006 (CARMA project) Risk assessment of *Campylobacter* in the Netherlands via broiler meat and other routes.
- NEPLUVI Eindrapport Fase 1 Sectorplan *Campylobacter*, 2008.
- Pasquali, F., De Cesare, A., Manfreda, G., en Franchini, A. Campylobacter control strategies in European poultry production. World's Poultry Science Journal, Vol. 67, pp.5-18, March 2011.
- Rodenburg, T.B., Van der Hulst-Arkel, M.C. en Kwakkel, R.P. Campylobacter and Salmonella infections on organic broiler farms. NJAS 52-2, 2004.
- Rodenburg, T.B., Van der Hulst-Arkel, M.C., Kwakkel, R.P. en Kijlstra, A. Grotere kans op besmetting bij biologische vleeskuikenhouderij. Pluimveehouderij, 34^e jaargang, 20 november 2004.
- Rosenquist, H., Boysen, L., Krogh, A.L., Nygaard Jensen, A. and Nauto, M. Campylobacter contamination and the relative risk of illness from organic broiler meat

in comparison with conventional broiler meat. International Journal of food microbiology. Accepted Manuscript.

- Sampers I., Jacxsens, L., Lunig, P.A., Marcelis, W.J., Dumoulin, A. en Uyttendaele, M. Performance of food safety management systems in poultry meat preparation processing plants in relation to campylobacter spp. contamination. Journal of Food Protection. 2010 Feb 73;8(2010):1447-1457.
- Sampers I., Habib I., De Zutter L., Dumoulin A., Uyttendaele M.. Survival of *Campylobacter spp.* in poultry meat preparations subjected to freezing, refrigeration, minor salt concentration, and heat treatment. Int J Food Microbiol. 2010 Feb 28;137(2-3):147-53.
- Sparks, N.H.C., The role of water supply sytem in the inflection and control of Campylobacter in chicken, 2009, World's Poultry Science Journal, Vol 65., pp. 459-473.
- Swart, A.N., Tomasi, M., Kretzschmar, M., Havelaar, A.H. en Diekmann, O. *The protective effect of temporary immunity under imposed infection pressure.* Epidemics, Volume 4, Issue 1, March 2012, Pages 43-47.
- Thornton, G. Will the same control measures and interventions work for Salmonella and Campylobacter in poultry? www.wattagnet.com/17852.html.
- Van Pelt W, Van der Heijden S.J. F.M., Van Duynhoven Y.T.H.P., Similarities and differences in seasonality of Campylobacter in broilers and humans, 1998-2006 2 National Institute for Public Health and the Environment, Bilthoven. Poster presentation.
- Van Pelt W., Havelaar A.H., Westra P.P., Wagenaar J.A.. Strong regional reduction of campylobacteriosis during and after avian influenza poultry farm culling. A model for future intervention studies at primary production? National Institute for Public Health and the Environment, Bilthoven. Poster presentation.
- Wagenaar, J. A., French, N.P. en Havelaar, A.H. Preventing Campylobacter at the source: Why is it so dofficult? Food Safety, 2013:57, December, pages 1600-1606.