



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

Surveillance zöonosen in vleesrunderen 2017

RIVM Briefrapport 2019-0081
T. Cuperus et al.



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

Surveillance zoonosen in vleesrunderen 2017

RIVM Briefrapport 2019-0081
T. Cuperus et al.

Colofon

© RIVM 2019

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.

DOI 10.21945/RIVM-2019-0081

T. Cuperus (auteur), RIVM
M. Opsteegh (auteur), RIVM
B. Wit (auteur), NVWA
C. Dierikx (auteur), RIVM
P. Hengeveld (auteur), RIVM
C. Dam (auteur), RIVM
M. Uiterwijk (auteur), RIVM
J. Roelfsema (auteur), RIVM
A. van Hoek (auteur), RIVM
J. van der Giessen (auteur), RIVM

Contact:

Joke van der Giessen
Infectieziekten en Vaccinologie/Zoönosen en
Omgevingsmicrobiologie/Dier en Vector
joke.van.der.giessen@rivm.nl

Dit onderzoek werd verricht in opdracht van NVWA in het kader van Monitoring pathogenen landbouwhuisdieren

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

Publiekssamenvatting

Onderzoek zoönosen in de vleesveehouderij in 2017

Dieren kunnen ziekteverwekkers bij zich dragen waar mensen ook ziek van kunnen worden. De ziekten die ze veroorzaken heten ook wel zoönosen. In 2017 onderzochten het RIVM en de NVWA hoe vaak enkele van deze ziekteverwekkers voorkwamen bij runderen die gefokt worden voor hun vlees. Hiervoor zijn runderen op 196 bedrijven onderzocht.

Daarnaast hebben 129 veehouders, gezinsleden en medewerkers meegedaan aan dit onderzoek. Het RIVM heeft gekeken of dezelfde ziekteverwekkers ook bij de deelnemers voorkwamen. De meeste van deze ziekteverwekkers veroorzaken diarree, maar soms kunnen infecties ernstiger verlopen. Er is ook naar ESBL-producerende bacteriën gekeken, omdat zij ongevoelig zijn voor een groep antibiotica.

Bij de onderzochte runderen komen een aantal ziekteverwekkers vaak voor. Ze zitten in de darmen van de dieren en dus ook in de mest. Het vlees kan besmet raken in het slachthuis als er mest op het vlees komt. Mensen kunnen een besmetting voorkomen door alleen rundvlees te eten als het goed gaar is. Ook is het belangrijk te voorkomen dat ander voedsel in contact komt met rauw vlees.

Vooraf de bacterie *Campylobacter* kwam veel voor bij de runderen: op 86 procent van de bedrijven. Bij veehouders en gezinsleden kwam deze bacterie bij 2 procent van de deelnemers voor.

STEC en ESBL-producerende bacteriën kwamen minder vaak voor bij de runderen; namelijk op 25 procent (STEC) en 15 procent (ESBL) van de bedrijven. Eén van de deelnemers droeg de STEC-bacterie bij zich. ESBL-producerende bacteriën zijn bij 7 procent van de deelnemers gevonden. Dit is ongeveer even vaak als bij de Nederlandse bevolking.

Op 4 procent van de bedrijven kwam de salmonellabacterie voor bij de runderen. Meestal waren dit typen salmonellabacteriën die bij mensen diarree kunnen veroorzaken. *Salmonella* is niet gevonden bij de veehouders en gezinsleden die meededen.

Kernwoorden: vleesvee, runderen, zoönosen, prevalentie, *Campylobacter*, *Salmonella*, ESBL-producerende *E. coli*, STEC, *Cryptosporidium*

Synopsis

Investigation into zoonoses in beef cattle farms in 2017

Animals can carry pathogens that can cause disease in humans. The diseases which they cause are also known as zoonoses. In 2017 the National Institute for Public Health and the Environment [Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu] (RIVM) and the Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority [Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit] (NVWA) investigated how often some of these pathogens occurred in beef cattle. This study involved cattle at 196 farms as well as 129 livestock farmers, family members and employees. RIVM assessed whether the same pathogens also occurred in the participants. Most of these pathogens usually cause diarrhoea, but the infections can sometimes be more severe. ESBL-producing bacteria were also assessed, as they are resistant to a group of antibiotics.

A number of pathogens occur frequently in the investigated cattle. They are present in the animals' intestines and therefore in the manure as well. The meat can become contaminated in the slaughterhouse if it comes in direct contact with the manure. People can prevent an infection by only eating beef that has been thoroughly cooked. It is also important to prevent other food coming into contact with raw meat.

Campylobacter was particularly prevalent in the cattle, namely at 86 percent of the farms. In the case of livestock farmers and family members, the same bacterium was found in 2 percent of the participants.

STEC and ESBL-producing bacteria were less prevalent in the cattle and were found at 25 percent (STEC) and 15 percent (ESBL) of the farms. One of the participants was a carrier of STEC. ESBL-producing bacteria were found in 7 percent of the participants. This is approximately the same as in the Dutch population.

Salmonella was present in cattle at 4 percent of the farms. Mostly these were types of *Salmonella* bacteria which can cause diarrhoea in people. *Salmonella* was not found in the livestock farmers and family members who participated.

Keywords: beef cattle, cattle, zoonoses, prevalence, *Campylobacter*, *Salmonella*, ESBL-producing *E. coli*, STEC, *Cryptosporidium*

Inhoudsopgave

1	Achtergrond — 9
1.1	Doel van het surveillanceprogramma — 9
1.2	Pathogenen — 9
1.2.1	<i>Campylobacter</i> — 9
1.2.2	<i>Salmonella</i> — 10
1.2.3	ESBL-producerende <i>E. coli</i> — 10
1.2.4	Shiga toxine-producerende <i>E. coli</i> (STEC) — 11
1.2.5	<i>Cryptosporidium</i> — 12
2	Methode — 13
2.1	Algemeen — 13
2.2	Microbiologische analyse — 13
2.2.1	<i>Campylobacter</i> — 13
2.2.1.1	Vleesvee — 13
2.2.1.2	Humaan — 14
2.2.2	<i>Salmonella</i> — 14
2.2.2.1	Vleesvee — 14
2.2.2.2	Humaan — 14
2.2.3	ESBL-producerende <i>E. coli</i> — 14
2.2.3.1	Vleesvee — 14
2.2.3.2	Humaan — 15
2.2.4	Shiga toxine-producerende <i>E. coli</i> (STEC) — 15
2.2.4.1	Vleesvee — 15
2.2.4.2	Humaan — 15
2.2.5	<i>Cryptosporidium</i> — 15
2.2.5.1	Vleesvee — 15
2.2.5.2	Humaan — 15
2.3	Data-analyse — 16
2.3.1	Beschrijvende statistiek — 16
2.3.2	Risicofactoranalyse — 16
2.3.2.1	<i>Campylobacter</i> en ESBL — 16
2.3.2.2	STEC — 17
3	Resultaten — 19
3.1	Respons — 19
3.2	Beschrijvende statistiek vleesveehouderij — 19
3.2.1	Bedrijfskenmerken — 19
3.2.2	Aan- en afvoer — 21
3.2.3	Huisvesting, weidegang en voeding — 22
3.2.4	Hygiëne — 24
3.2.5	Diergezondheid — 26
3.3	Zoönotische pathogenen bij vleesvee — 28
3.3.1	Prevalentie — 28
3.3.2	Typering — 28
3.3.2.1	<i>Campylobacter</i> — 28
3.3.2.2	<i>Salmonella</i> — 29
3.3.2.3	ESBL-producerende <i>E. coli</i> — 29
3.3.2.4	STEC — 31
3.3.2.5	<i>Cryptosporidium</i> — 31
3.4	Beschrijvende statistiek humane deelnemers — 31

3.5	Zoönotische pathogenen bij humane deelnemers — 33
3.5.1	Prevalentie — 33
3.5.2	Typering — 33
4	Risicofactoren — 35
4.1	Risicofactoren voor <i>Campylobacter</i> bij vleesvee — 35
4.2	Risicofactoren voor ESBL-producerende <i>E. coli</i> bij vleesvee — 36
4.3	Risicofactoren voor STEC bij vleesvee — 37
5	Discussie — 39
5.1	<i>Campylobacter</i> — 39
5.1.1	Prevalentie vleesvee — 39
5.1.2	Risicofactoren vleesvee — 39
5.1.3	Resultaten bij veehouders, medewerkers en gezinsleden — 40
5.1.4	Risico voor de mens — 41
5.2	<i>Salmonella</i> — 41
5.2.1	Prevalentie vleesvee — 41
5.2.2	Risicofactoren vleesvee — 41
5.2.3	Risico voor de mens — 41
5.3	ESBL-producerende <i>E. coli</i> — 42
5.3.1	Prevalentie vleesvee — 42
5.3.2	Risicofactoren vleesvee — 43
5.3.3	Resultaten bij veehouders, medewerkers en gezinsleden — 43
5.3.4	Risico voor de mens — 43
5.4	STEC — 44
5.4.1	Prevalentie vleesvee — 44
5.4.2	Risicofactoren vleesvee — 45
5.4.3	Resultaten bij veehouders, medewerkers en gezinsleden — 45
5.4.4	Risico voor de mens — 46
5.5	<i>Cryptosporidium</i> — 46
5.5.1	Prevalentie vleesvee — 46
5.5.2	Resultaten bij veehouders, medewerkers en gezinsleden — 47
5.5.3	Risico voor de mens — 47
6	Conclusie — 49
7	Referenties — 51

1 Achtergrond

Alle EU-lidstaten dienen in het kader van de Zoönosenrichtlijn (2003/99/EC) informatie te verzamelen over het vóórkomen en de trends van zoönoseverwekkers bij de mens, dieren en (dierlijke) producten en daarover jaarlijks aan ECDC (humaan) en EFSA (dier en dierlijke producten) te rapporteren. In dit kader voert het Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM) in samenwerking met de Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit (NVWA) een surveillanceprogramma voor zoönotische agentia bij landbouwhuisdieren uit.

1.1 Doel van het surveillanceprogramma

Het doel van dit surveillanceprogramma is om inzicht te krijgen in het vóórkomen en de trends van zoönosenverwekkers bij landbouwhuisdieren, evenals de antibioticumresistentie van (een deel van) deze pathogenen. Daarnaast is het doel om aan de hand van de typering van pathogenen epidemiologische verbanden te kunnen leggen tussen het vóórkomen van deze pathogenen bij landbouwhuisdieren en het optreden van infecties bij veehouders en hun gezinsleden, die nauw contact hebben met landbouwhuisdieren. Een analyse van risicofactoren kan handvatten bieden voor efficiënte interventie maatregelen waarmee verspreiding van zoönoseverwekkers van dieren naar mensen kan worden voorkomen.

In een meerjarige cyclus wordt ieder jaar een dierketen onder de loep genomen. De ketens die worden gemonitord op diverse relevante pathogenen zijn varkens, pluimvee, runderen, vleeskalveren en kleine herkauwers. In 2013 is gestart met varkensbedrijven, daaropvolgend zijn in 2015 legpluimveebedrijven en in 2016 melkgeiten- en melkschapenhouderijen onderzocht.

In 2017 is de vleesveeketen nader onderzocht. Op alle deelnemende bedrijven zijn mestmonsters genomen die geanalyseerd zijn op de aanwezigheid van *Campylobacter*, *Salmonella*, ESBL-producerende *E. coli*, Shiga toxine-producerende *E. coli* (STEC) en *Cryptosporidium*. Daarnaast zijn fecesmonsters van veehouders, medewerkers en gezinsleden verzameld en onderzocht op dezelfde zoönotische pathogenen. In dit rapport worden de prevalentieschattingen en de risicofactoranalyse uit het surveillanceprogramma in 2017 beschreven.

1.2 Pathogenen

1.2.1 *Campylobacter*

Campylobacter is een voedselpathogeen en is de belangrijkste veroorzaker van voedselinfecties in Nederland. Het aantal gevallen van gastro-enteritis door *Campylobacter*-infecties in Nederland werd in 2017 geschat op ongeveer 67.000 (Uiterwijk et al., 2018)

Er zijn meer dan 30 *Campylobacter* soorten, waarvan de meest voorkomende *C. jejuni* en *C. coli* zijn. Deze soorten zijn ook het meest van belang voor humane infecties. De meest voorkomende oorzaak van

een humane *Campylobacter*-infectie is rauw of niet geheel gaar vlees, vooral van gevogelte zoals kip. Andere mogelijke besmettingsbronnen zijn verontreinigd water en direct contact met besmette dieren.

In een recente Nederlandse bronattributiestudie werd geschat dat humane gevallen van campylobacteriose voor 20-25% kunnen worden toegeschreven aan runderen. Dit betreft de som van alle mogelijke besmettingsroutes en niet alleen de consumptie van besmet voedsel (Mughini Gras et al., 2012). Op rundvleesproducten wordt *Campylobacter* zeer weinig gevonden (<1 %, Uiterwijk et al. (2018)).

De prevalentie van *Campylobacter* bij vleesvee in Nederland is onbekend. In onderzoeken die *Campylobacter* bij vleesvee in ander landen beschrijven worden zeer uiteenlopende prevalenties gevonden, van 6% in Frankrijk tot 87% in Canada (Chatre et al., 2010; Hannon et al., 2009).

1.2.2 *Salmonella*

Salmonella is een bacterie die voorkomt in de darmen van dieren en bij zowel mens als dier diarree kan veroorzaken. Een infectie door *Salmonella* komt in Nederland veel voor, naar schatting lopen zo'n 32.000 mensen per jaar salmonellose op, waarvan ongeveer 1.000 personen in het ziekenhuis moeten worden opgenomen (Uiterwijk et al., 2018).

Humane *Salmonella* infecties worden slechts voor een klein deel toegeschreven aan runderen. In twee Nederlandse bronattributiestudies werden percentages van 2% en 6,2% gevonden (Mughini-Gras et al., 2014; Uiterwijk et al., 2017). Toch zijn er nog regelmatig uitbraken van salmonellose die gelinkt kunnen worden aan de consumptie van rauw rundvlees (Friesema et al., 2012).

De prevalentie van *Salmonella* bij vleesvee in Nederland is onbekend. In een recente studie bij Spaans vleesvee werd een prevalentie van 5,8% gevonden (Hurtado et al., 2017).

1.2.3 *ESBL-producerende E. coli*

De afkorting ESBL staat voor 'Extended Spectrum Beta-Lactamases'. Dit zijn eiwitten/enzymen die antibiotica afbreken, waardoor de bacteriën die ESBL produceren minder gevoelig zijn voor een belangrijke groep antibiotica, de beta-lactam antibiotica (zoals penicillines en cephalosporines). Als een patiënt een infectie krijgt met ESBL-producerende bacteriën, zijn de mogelijkheden om deze infectie met antibiotica te behandelen beperkter.

De resistentie van deze bacteriën kan zich snel en efficiënt verspreiden doordat de genen die coderen voor de ESBL-enzymen vaak op mobiele elementen zoals plasmiden liggen (horizontale transmissie). ESBL-enzymen kunnen in verschillende bacteriën voorkomen. *E. coli* is een indicatororganisme voor het vóórkomen van ESBL's.

Er zijn verschillende reservoirs van ESBL-producerende bacteriën aangetoond, waaronder voedsel, milieu en gezelschaps- en landbouwhuisdieren. In de recent gepubliceerde ESBLAT rapportage (ESBL-Attributieanalyse, Mevius et al. (2018)) wordt beschreven dat de types ESBL-producerende *E. coli* die vaak bij mensen worden gevonden, relatief weinig teruggevonden worden in dierlijke bronnen. Dit suggereert dat vee en vlees een relatief kleine bijdrage leveren aan ESBLs bij de mens, in vergelijking tot de overdracht van mens-tot-mens. Dit wordt tevens bevestigd in een recent onderzoek onder vegetariërs en niet-vegetariërs, waarbij vegetariërs geen verlaagd risico op ESBL-dragerschap bleken te hebben ten opzichte van vleeseters (Dierikx et al., 2018). Een uitzondering hierop vormen mensen die beroepsmatig veel contact met dieren hebben, zoals veehouders. De ESBL types in deze bevolkingsgroep vertonen vaak een sterke gelijkenis met die in het eigen vee en deze mensen zijn vaker drager van ESBLs dan mensen in de algemene bevolking (Dierikx et al., 2013; Dohmen et al., 2015). Hoewel de bijdrage van vleesconsumptie aan humane ESBL-blootstelling dus klein lijkt, wordt van alle vleessoorten rundvlees (voornamelijk rauw geconsumeerde vleesbereidingen zoals filet americain of ossenworst), gezien als de vleessoort die de grootste bijdrage levert aan ESBL-blootstelling naar de mens (Evers et al., 2017).

De prevalentie van ESBL-producerende *E. coli* bij vleesvee in Nederland is onbekend. In een studie onder Nederlands melkvee werd een prevalentie van 39% gevonden (Gonggrijp et al., 2016). Een Duitse studie naar ESBL-producerende *E. coli* bij vleesvee rapporteerde een vergelijkbare prevalentie (41%).

1.2.4

Shiga toxine-producerende E. coli (STEC)

STEC zijn *E. coli* bacteriën die Shiga toxine produceren. Symptomen van STEC-infecties kunnen variëren van milde diarree tot gecompliceerde bloederige diarree (colitis). In 2-7% van de gevallen kan het hemolytisch uremisch syndroom optreden wat gepaard gaat met acuut nierfalen. STEC-stammen geassocieerd met deze ernstige symptomen worden ook enterohemorragische *E. coli* (EHEC) genoemd. Humane STEC infecties zijn in Nederland meldingsplichtig. In 2017 werden er in totaal 393 patiënten geregistreerd (Uiterwijk et al., 2018).

Net als andere *E. coli* pathogenen, wordt STEC serologisch getypeerd naar O- en H- antigenen. STEC O157:H7 is het meest bekende serotype, maar er zijn meer dan 200 serotypen beschreven.

Herkauwers zoals runderen, geiten en schapen vormen het belangrijkste reservoir van STEC. In de Surveillance van melkgeiten- en melkschape uit 2016 werd een STEC prevalentie van bijna 100% gevonden (Opsteegh et al., 2018). De bacterie wordt via de mest uitgescheiden en kan op deze manier ook in het milieu terecht komen. Mensen kunnen besmet raken via voedselproducten (bijvoorbeeld het eten van onvoldoende verhit (rund)vlees) of door contact met besmette mest. Een recente Nederlandse bronattribuïestudie stelt dat zo'n 50% van de humane STEC besmettingen kunnen worden toegeschreven aan rundvee (Mughini-Gras et al., 2017). Eten van rundvlees in het algemeen en rauw te consumeren producten afkomstig van rundvlees (zoals filet americain, ossenworst etc) zijn risicofactoren voor het oplopen van een

STEC besmetting. Ook contact met dieren (algemeen of runderen) wordt in meerdere studies beschreven als een risicofactor voor humane STEC-infecties, in het bijzonder voor jonge kinderen (Friesema et al., 2015; Kassenborg et al., 2004; McPherson et al., 2009; Werber et al., 2007).

De prevalentie van STEC bij vleesvee varieert sterk tussen studies en landen. Zo zijn er voor STEC O157 prevalenties vastgesteld van minder dan 1% tot 27,3% en voor non-O157 lopen de prevalenties uiteen van 2 tot 70% (Hussein and Bollinger, 2005). De prevalentie van STEC bij vleesvee in Nederland is onbekend.

1.2.5 *Cryptosporidium*

Cryptosporidium spp. zijn eencellige parasieten (protozoa), die vele diersoorten en mensen kunnen infecteren. Infecties kunnen een asymptomatisch verloop hebben, maar ook tot diarree leiden. Bij immuungecompromiteerde patiënten kan de infectie zelfs levensbedreigend zijn.

Er zijn meer dan 25 verschillende *Cryptosporidium*-soorten bekend, waarvan 20 soorten mensen kunnen infecteren. *C. hominis* en *C. parvum* zijn de meest voorkomende *Cryptosporidium*-soorten bij de mens (Wielinga et al., 2008). Bij 2-3% van Nederlandse patiënten met gastro-enteritis wordt *Cryptosporidium* aangetoond (de Wit et al., 2001). Tijdens de nazomermaanden (augustus, september) is er vaak een verheffing van het aantal humane infecties. In de zomer van 2012 was er een ongebruikelijk hoge verheffing. In die zomer werd bij humane patiënten in 70% van de gevallen *C. hominis* vastgesteld, terwijl in 2013 de verheffing met name door *C. parvum* werd veroorzaakt (Fournet et al., 2013; Zomer, 2014). Sinds 2014 is er een laboratorium surveillance opgezet, waarbij *Cryptosporidium* DNA afkomstig van patiënten bij het RIVM wordt getypeerd.

Mensen kunnen worden besmet via contact met dieren, het eten van besmet voedsel of het drinken van of zwemmen in besmet water. De met de feces uitgescheiden *Cryptosporidium*-oöcysten zijn zeer resistent in de omgeving, vooral onder vochtige omstandigheden.

Symptomatische *Cryptosporidium* infecties komen vooral in jonge dieren voor (kalveren, lammeren, biggen). Bij herkauwers in Nederland wordt dit vrijwel altijd veroorzaakt door *C. parvum* (Wielinga et al., 2008). Over het voorkomen, de soorten en subtypes van *Cryptosporidium* bij gezond, volwassen vleesvee in Nederland is niets bekend.

2 Methode

2.1 Algemeen

Gebaseerd op gegevens van de Gezondheidsdienst voor Dieren zijn er in Nederland zo'n 6000 vleesveebedrijven. Hieronder vallen zowel de bedrijven die vleesvee mesten als ook de zoogkoeienbedrijven. Daarnaast zijn er nog meer dan 10.000 kleinschalige bedrijven met een gemiddelde bedrijfsgrootte van 6 dieren.

Voor deze studie zijn alleen de bedrijven geselecteerd met minimaal 20 dieren in de categorieën 'stieren' en 'vrouwelijk vleesvee'. Uit deze dataset van 1306 bedrijven zijn 300 BRS-nummers (bedrijfsrelatienummer) random geselecteerd waarbij de kans op selectie toenam met het geschatte aantal vleesvee op het bedrijf (R software, probability sampling without replacement). De steekproefgrootte is berekend met behulp van Winepi.net en is gebaseerd op het aantal benodigde bedrijven om een uitspraak te kunnen doen over de prevalenties van de verschillende pathogenen met een betrouwbaarheid van 95%. Van de steekproef zijn 200 bedrijven random toegewezen voor bemonstering in een bepaalde maand en de overige 100 bedrijven op een reservelijst geplaatst.

Geselecteerde bedrijven kregen een brief en informatiefolder toegestuurd en zijn door de NVWA benaderd en bezocht tussen maart 2017 en januari 2018. Op elk bedrijf zijn at random zes mengmonsters (van 5 dieren per monster) genomen uit de stallen of de weide waar het vleesvee verbleef. Per mengmonster werden 5 schepjes verse mest verzameld uit één stal of weide.

De mengmonsters zijn door de NVWA onderzocht op het voorkomen van *Campylobacter*, *Salmonella*, ESBL-producerende *E. coli* en STEC. Voor het onderzoek naar STEC is één van de zes mengmonsters at random gekozen voor analyse. Daarnaast zijn de monsters door het RIVM onderzocht op de aanwezigheid van *Cryptosporidium*. Voor de risicofactoranalyse is samen met de veehouder een bedrijfsvragenlijst ingevuld met vragen over bedrijfskenmerken, hygiënemaatregelen en diergezondheid.

Parallel aan het nemen van de mestmonsters van het vleesvee zijn de bedrijven benaderd voor deelname aan het humane deel van het onderzoek. Hierbij werden de veehouder, hun gezinsleden en medewerkers gevraagd een ontlastingsmonster en een ontlastingswab op te sturen en een vragenlijst in te vullen. Deze materialen zijn door het RIVM onderzocht op de aanwezigheid van *Campylobacter*, *Salmonella*, ESBL-producerende *E. coli*, STEC en *Cryptosporidium*.

2.2 Microbiologische analyse

2.2.1 *Campylobacter*

2.2.1.1 *Vleesvee*

De kweekmethode is gebaseerd op ISO 10272 deel 1B: Microbiology of food and feeding stuff – Horizontal method for detection and

enumeration of *Campylobacter spp.* Part 1B 'Detection in products with high background of non-campylobacters'. Een feces swab werd opgehoopt in 10 ml Preston bouillon en na bebroeding afgestreeken op Modified Charcaol Cefoperazone Deoxycholate Agar (mCCDA). Isolaten van *Campylobacter* werden getest op gevoeligheid voor verschillende klassen antibiotica met de Micro Broth Dilution methode gelijkwaardig aan ISO 20776. Gebruikte panels van antibiotica zijn conform EU regelgeving voor monitoring van antimicrobiële resistentie (AMR, uitvoeringsbesluit 2013/652/EU).

2.2.1.2 *Humaan*

Ongeveer 1 g feces werd afgewogen in 9 ml Preston bouillon en 24 uur geïncubeerd bij 41,5 °C. Tevens werd de ingestuurde fecesswab op dezelfde manier geïncubeerd. Van beide ophopingen werd 10 µl met een öse afgestreeken op mCCDA en 48 uur geïncubeerd bij 41,5 °C. Daarnaast is fecesmateriaal zonder ophoping afgestreeken op mCCDA en op dezelfde wijze geïncubeerd. *Campylobacter* verdachte koloniën zijn microscopisch beoordeeld en bevestigd met real-time PCR (Jensen et al., 2005; Keramas et al., 2003).

2.2.2 *Salmonella*

2.2.2.1 *Vleesvee*

10 g mest werd onderzocht gelijkwaardig met ISO 6579-1. Isolaten zijn met de Check&Trace methode getypeerd op serotype. Isolaten van *S. Enteritidis* en *S. Typhimurium* werden opgestuurd naar het RIVM voor bepalingen van het MLVA profiel.

2.2.2.2 *Humaan*

Ongeveer 1 g feces werd afgewogen in 9 ml gebufferd pepton water (BPW) en overnacht geïncubeerd bij 37 °C. Van deze ophoping werd 100 µl overgebracht op een MRSV plaat met novobiocine. Na incubatie van 24 of 48 uur bij 41,5 °C werd van verdachte platen een reinstrijk gemaakt op Brilliance Salmonella Agar (BSA) platen. BSA platen werden 24 uur geïncubeerd bij 37 °C. Per BSA plaat werden drie kolonies biochemisch bevestigd en geënt op bloedagar. Positief bevestigde *Salmonella* isolaten werden voor serotypering aangeboden aan het IDS laboratorium van het RIVM.

2.2.3 *ESBL-producerende E. coli*

2.2.3.1 *Vleesvee*

Een fecesswab werd rechtstreeks afgestreeken op MacConkey agar met cefotaxime (1 mg/l) en opgehoopt in BPW en na incubatie (16-20 uur bij 37 °C) eveneens afgestreeken op MacConkey agar met cefotaxime. Bevestiging van verdachte *E. coli* vond plaats met MaldiTof. Karakteristieke isolaten werden verzameld en door RIVM getypeerd zoals beschreven bij de humane isolaten (zie hieronder).

De ESBL verdachte isolaten werden getest op gevoeligheid voor verschillende klassen antibiotica met de Micro Broth Dilution methode gelijkwaardig aan ISO 20776. Gebruikte panels van antibiotica zijn conform EU regelgeving voor monitoring van antimicrobiële resistentie (AMR, uitvoeringsbesluit 2013/652/EU).

2.2.3.2 *Humaan*

Een humane fecesswab werd selectief opgehoopt in LB-bouillon met cefotaxime (1 mg/l), waarna 10 µl van de ophoping met een öse werd afgestreakt op Brilliance *E. coli*/coliform selective agar (BECSA) met cefotaxime (1 mg/l). *E. coli* verdachte isolaten zijn onderzocht op aanwezigheid van ESBL/AmpC-genen met behulp van (multiplex) PCR en sequentie-analyse (Dallenne et al., 2010; van Hoek et al., 2015). Daarnaast zijn *E. coli* isolaten getypeerd met MLST (Wirth et al., 2006).

2.2.4 *Shiga toxine-producerende E. coli (STEC)*

2.2.4.1 *Vleesvee*

Fecesswabs (één monster per bedrijf) werden conform ISO/TS 13136 (2012) onderzocht. Kortweg bestaat dit uit een verrijking, een PCR screening op *stx*₁ en *stx*₂ genen, en isolatie in het geval van positieve PCR screening. Uit de positief gescreende monsters, werd getracht STEC te isoleren en indien succesvol, werd typering, O en H antigenen en/of bepaling van aanwezigheid van aanhechtingsgenen, van de isolaten uitgevoerd.

2.2.4.2 *Humaan*

Ingevroren humane feces werd ontdooid en 1 g werd overgebracht naar een buisje met 9 ml BPW en overnacht opgehoopt bij 37 °C. De ophoping werd met PCR gescreend op de aanwezigheid van *stx* genen. Bij een positieve PCR screening werden er conform ISO/TS 13136 (2012) verdunningen van de ophoping uitgeplaat op BECSA en/of TBX voor 24 uur bij 37 °C. In totaal werden 50 kolonies per plaat geanalyseerd om te bepalen of dit STEC betrof. Bij isolatie van STEC werd een typering van de isolaten uitgevoerd.

2.2.5 *Cryptosporidium*

2.2.5.1 *Vleesvee*

DNA-isolatie op mest (~0,2 g) werd uitgevoerd met de Qiagen QIAamp DNA Fast Stool Mini Kit volgens de aanwijzingen van de fabrikant, met aanpassing van het protocol op enkele punten: na toevoeging van InhibitEX buffer werden monsters 15 minuten bij -80°C en vervolgens 5 minuten bij 95°C geïncubeerd. Proteïnase K incubatie vond plaats bij 56°C gedurende 1 uur. Met 100 µl ATE buffer werd het DNA van de kolom geëluëerd.

Alle mestmonsters werden getest met een 18S rRNA qPCR (Jothikumar et al., 2008). Monsters met een Cp tot 40,00 werden vervolgens getest met een confirmatie- en typerings-PCR (GP60, aangepast naar Chalmers et al. (2017))

2.2.5.2 *Humaan*

DNA isolatie werd uitgevoerd met Qiagen DNeasy Blood & Tissue Kit volgens de aanwijzingen van de fabrikant.

Alle monsters zijn bij IDS-RIVM getest met een Multiplex qPCR voor *Giardia*, *Dientamoeba* en *Cryptosporidium* aangepast naar Jothikumar et al. (2008) en een Duplex qPCR voor verschillende *Cryptosporidium* soorten aangepast naar Hadfield et al. (2011). Monsters met een Cp tot 40,00 werden vervolgens getest met een GP60 typerings-PCR (Roelfsema et al., 2016).

2.3 Data-analyse

2.3.1 Beschrijvende statistiek

De bedrijfsvragenlijsten zijn geanalyseerd om inzicht te krijgen in bedrijfsaspecten van de vleesveehouderij.

Per pathogeen wordt de prevalentie met 95% betrouwbaarheidsinterval berekend op bedrijfs- en monsterniveau. Een bedrijf wordt positief genoemd als ten minste één van de zes mengmonsters positief was voor het betreffende pathogeen. Voor het 95% betrouwbaarheidsinterval is gebruik gemaakt van de webtool van Ausvet en de Clopper-Pearson methode (<http://epitools.ausvet.com.au>).

2.3.2 Risicofactoranalyse

Voor elk van de pathogenen wordt een uitgebreide statistische data-analyse uitgevoerd om mogelijke risicofactoren te identificeren voor infectie bij vleesvee. Voor de resultaten van de veehouders, gezinsleden en/of medewerkers is geen risicofactoranalyse uitgevoerd omdat het aantal deelnemers in combinatie met de lage prevalentie ontoereikend was.

Ten behoeve van de risicofactoranalyse zijn de uitslagen van de microbiologische analyse gekoppeld aan de ingevulde vragenlijsten. Voorafgaand aan de statistische analyse is door deskundigen een eerste selectie gemaakt van interessante variabelen die mogelijk een invloed hebben op infectie. Deze geselecteerde variabelen zijn het uitgangspunt van de verdere data-analyse.

2.3.2.1 *Campylobacter* en ESBL

De uiteindelijke dataset die gebruikt is voor de analyse van *Campylobacter* en ESBL bevat gegevens van 1167 monsters. Van ieder monster is bekend of het positief is voor *Campylobacter* en/of ESBL, op welke bedrijf het is genomen en de bijbehorende antwoorden (waardes) op 192 vragen over de risicofactoren op het bedrijf.

Bij veel monsters missen echter de waardes voor een of meer risicofactoren. Bij een gewone analyse zullen deze monsters dan niet worden meegenomen. Behalve dat dit zorgt voor minder onderscheidingsvermogen, zorgt dit ook voor een oneerlijke vergelijking tussen de verschillende risicofactoren.

In deze analyse is ervoor gekozen de missende waarden terug te schatten uit de resterende beschikbare gegevens, volgens de methode van Multivariate Imputations by Chained Equations (Van Buuren et al., 2006). Hierbij maken we impliciet de aanname dat de missende gegevens inderdaad op deze manier terug te schatten zijn. Er zijn 20 verschillende datasets geïmputeerd (volledig gemaakt).

Er zijn meerdere monsters genomen per bedrijf. Dat houdt in dat de monsters van hetzelfde bedrijf op elkaar zullen lijken en daarmee niet onafhankelijk zijn. Met dit clusteringeffect op bedrijfsniveau is in de analyses rekening gehouden door het toevoegen van een random effect op bedrijfsniveau.

Allereerst is voor iedere risicofactor een univariate screening uitgevoerd door Bayesiaanse logistische regressie met een random effect voor de bedrijven. De modellen zijn gefit aan elk van de 20 geïmputeerde datasets. De uitkomsten zijn gecombineerd tot één uiteindelijke associatie met een bijbehorende onzekerheid en p-waarde voor de risicofactor. Deze bevat naast de onzekerheid van de analyses ook de onzekerheid van de imputaties zelf (dit komt door het ontbreken van gegevens). In totaal zijn dus 192 toetsen uitgevoerd. We corrigeren hier voor multiple testing door een aanpassing van de p-waardes.

Door experts zijn op basis van de significante univariate effecten twee lijsten gemaakt van variabelen. De eerste lijst van risicofactoren (1^e keuze) is in een Bayesiaans multivariaat logistisch regressie model met random effecten geanalyseerd met behulp van achterwaartse selectie. Hierbij is als criterium de significantie van de mediane p-waarde van de twintig likelihood ratio-toetsen (op elk van gecompleteerde datasets) gebruikt. In iedere stap wordt gekeken of een risicofactor verwijderd kan worden die niet significant bijdraagt aan het model. Op deze manier wordt het best passende model gezocht.

Daarna zijn de risicofactoren uit de tweede lijst (2^e keuze) één voor één toegevoegd aan het bovenstaande model (voorwaartse selectie) en is gekeken of de risicofactor significant bijdraagt aan het model. Dit gebeurt met dezelfde toetsen als hierboven beschreven. Is de bijdrage significant, dan wordt ook deze risicofactor toegevoegd aan het model.

Op deze manier komen we tot het uiteindelijke model. Een opmerking hierbij is dat, door deze aanpak, het kan gebeuren dat sommige van de variabelen die overbleven na de achterwaartse selectie, in het uiteindelijke model niet meer significant blijken te zijn. Dit kan komen door collineariteit met toegevoegde risicofactoren of confounding.

2.3.2.2 *STEC*

Voor STEC is slechts 1 monster per bedrijf getest. De dataset bevat gegevens van 196 monsters (bedrijven) en 185 potentiële risicofactoren. Ook hier worden de ontbrekende waarden twintig keer geïmputeerd.

Er is hier geen sprake van clustering.

De univariate screening van de risicofactoren gebeurt hier met logistische regressie op elk van de 20 geïmputeerde datasets. De analyses zijn gecombineerd en p-waarden gecorrigeerd voor multiple testing.

Uit de risicofactoren met significante univariate effecten zijn door experts twee lijsten van variabelen gemaakt. De eerste lijst (1^e keuze) is de basis voor een stapsgewijze achterwaartse selectie in een multivariate logistische regressieanalyse op de twintig geïmputeerde STEC datasets.

Daarna zijn de variabelen van de tweede lijst (2^e keuze) één voor één getoetst op additionele significante bijdrage aan het model en toegevoegd aan het model als dit inderdaad zo is.

3 Resultaten

3.1 Respons

In totaal zijn er 196 bedrijven bezocht en bemonsterd. Van alle 196 bedrijven is een ingevulde bedrijfsvragenlijst beschikbaar. Op verreweg de meeste bedrijven zijn 6 mestmonsters genomen. Op 6 bedrijven zijn minder monsters genomen: 4x 5 monsters, 1x 4 monsters en 1x 3 monsters. In totaal zijn 1167 mestmonsters genomen.

Van de 196 bedrijven hebben 74 bedrijven ook meegedaan met het humane deel van het onderzoek (38%). In totaal deden 129 veehouders, medewerkers en gezinsleden mee. Gemiddeld waren er 1,7 deelnemers per bedrijf (range 1-4). Van één deelnemer is geen ingevulde vragenlijst ontvangen.

3.2 Beschrijvende statistiek vleesveehouderij

De bedrijfsvragenlijsten die samen met de veehouder zijn ingevuld geven waardevolle informatie over de sector. Hieronder worden verschillende bedrijfsaspecten verder toegelicht. In totaal zijn er ingevulde bedrijfsvragenlijsten van 196 bedrijven beschikbaar. Niet alle vragen zijn door alle bedrijven beantwoord.

3.2.1 *Bedrijfskenmerken*

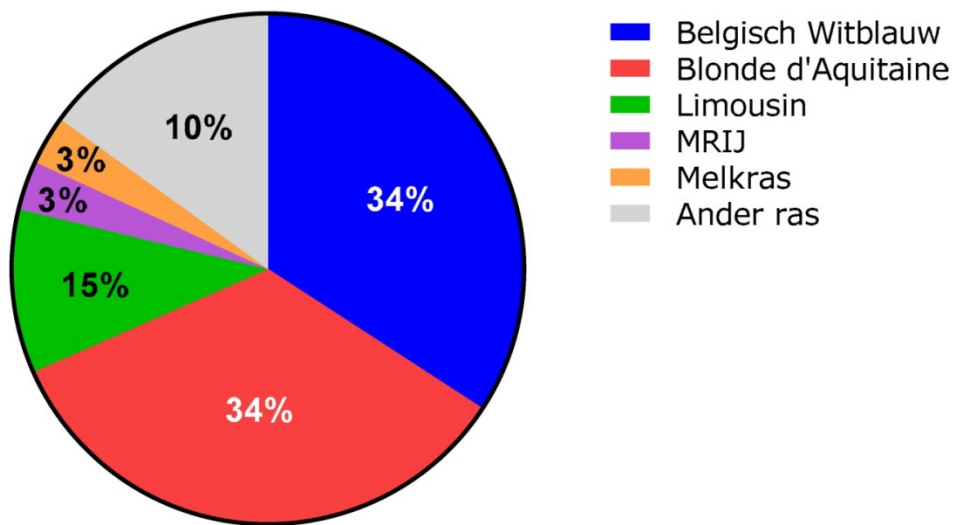
Naast het mesten van mannelijk of vrouwelijk vleesvee, hielden 61% van de bedrijven in deze studie zich bezig met andere takken binnen de vleesveehouderij. Zo houdt 44% van de deelnemende bedrijven zoogkoeien met kalveren en worden op 40% van de bedrijven afgeschreven zoogkoeien gemest. Zeventien procent (17%) van de bedrijven houdt zich bezig met fokkerij, waarbij kalveren worden gefokt om op te groeien tot dekstier of moederdier. Daarnaast houdt 14% van de bedrijven zich bezig met natuurbeheer, bijvoorbeeld via een begrazingskudde. Tenslotte wordt op 6% van de deelnemende bedrijven afgemolken melkvee gemest en is op 10% van de bedrijven naast vleesvee ook melkvee aanwezig.

De vleesveebedrijven in deze studie wisselden sterk in grootte. Gemiddeld werden er 143 stuks vleesvee gehouden (range 13-983). Mannelijk vleesvee (gemiddeld 109 dieren) werd vaker gehouden dan vrouwelijk vleesvee (gemiddeld 62 dieren). Op 36% van de bedrijven was in het geheel geen vrouwelijk vleesvee aanwezig. Op de bedrijven waar ook zoogkoeien werden gehouden waren gemiddeld 70 zoogkoeien aanwezig (range 2-340).

In de vleesveehouderij zijn enkele kwaliteitssystemen waarbij de veehouder zich kan aansluiten. IKB Rund is het meest bekende kwaliteitssysteem. Het grootste deel van de vleesveebedrijven in deze studie was aangesloten bij IKB Rund (86%). Daarnaast was 34% van de bedrijven in deze studie aangesloten bij Q-rund, het kwaliteitssysteem van Qlip wat zich voornamelijk richt op antibiotica en medicijngebruik. Dertig procent (30%) van de bedrijven gaf aan te zijn gecertificeerd voor de Maatlat Duurzame Veehouderij.

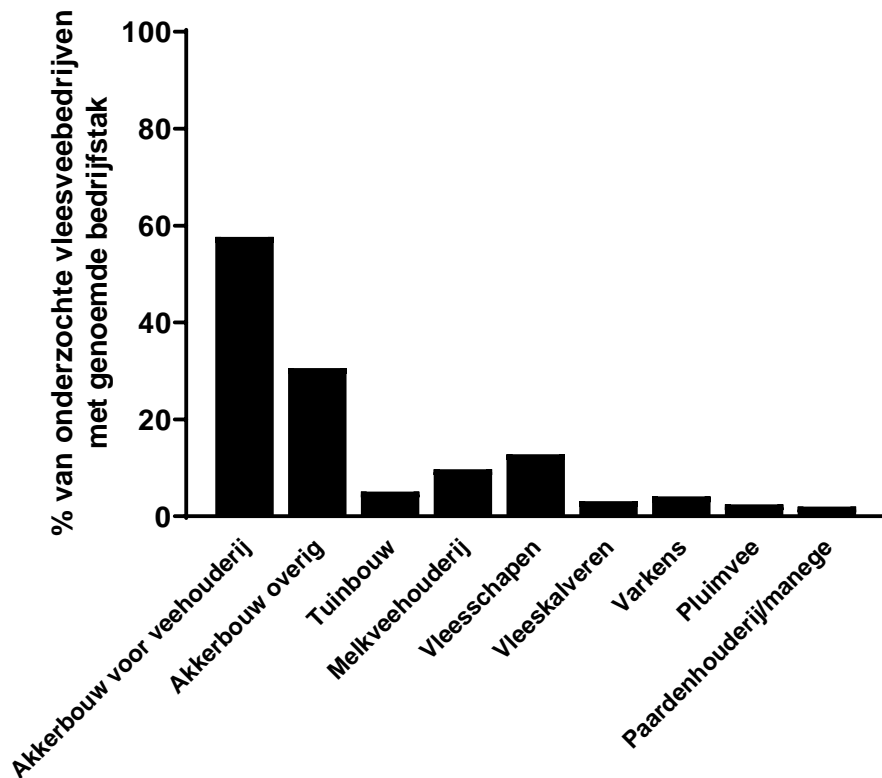
Van de deelnemende vleesveebedrijven is 3,6% biologisch (SKAL gecertificeerd) en neemt 19,5% geheel of gedeeltelijk deel aan het Beter Leven keurmerk van de Dierenbescherming. Alle bedrijven in deze studie die deelnemen aan Beter Leven hadden 1 ster.

Er werden verschillende runderrassen gehouden (Figuur 1). In de bedrijfsvragenlijsten werden in totaal ongeveer 20 verschillende rassen genoemd. Op 112 bedrijven (58%) werd meer dan één ras gehouden. De meest voorkomende rassen zijn Blonde d'Aquitaine (op 54% van de bedrijven), Belgisch Witblauw (50%) en Limousin (24%).



Figuur 1 Meest voorkomende ras op vleesveebedrijven (MRIJ = roodbonte Maas-Rijn- en IJsselvee). In deze figuur is per runderras te zien op welk percentage van de onderzochte vleesveebedrijven dat ras het meestvoorkomende ras is.

Naast vleesveehouderij gaven 75% van de bedrijven aan nog een andere agrarische bedrijfstak te hebben (Figuur 2). Het grootste aandeel hiervan was akkerbouw voor de veehouderij (58%). Daarnaast hebben 31% van de bedrijven een overige akkerbouwtak, 5% doet aan tuinbouw en 30% houdt naast vleesvee bedrijfsmatig andere dieren (voornamelijk melkvee en vleeschapen).



Figuur 2 Overige agrarische bedrijfstakken op de onderzochte vleesveebedrijven.

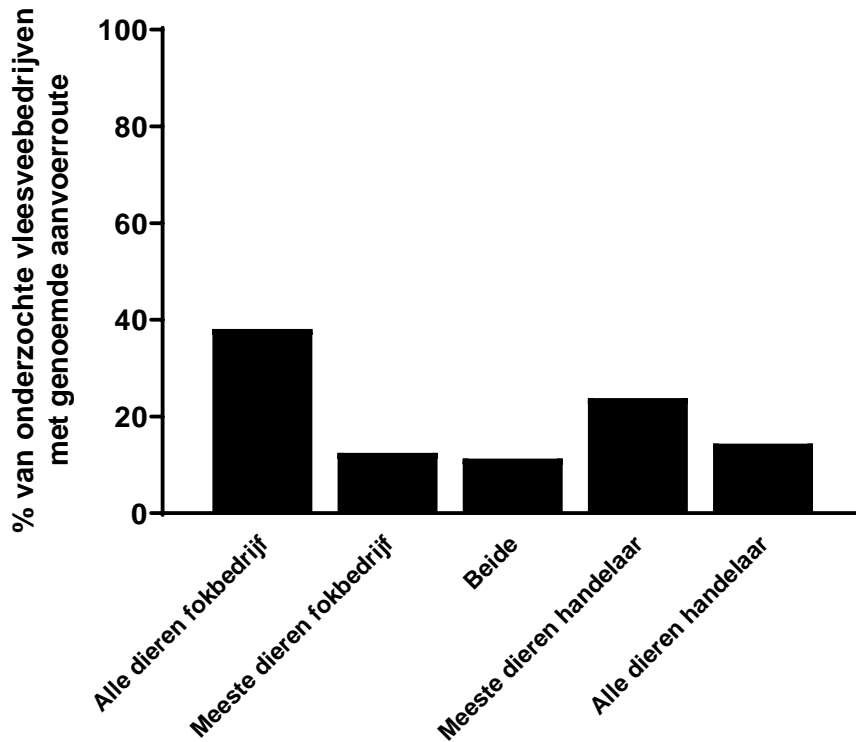
3.2.2

Aan- en afvoer

In 2016 werden door de bedrijven in deze studie gemiddeld 120 dieren per bedrijf aan het slachthuis geleverd. De variatie in aantallen geleverde dieren was groot, van 3 tot 1200. Gemiddeld werden de dieren op een leeftijd van 28 maanden afgeleverd (range 5-96 maanden).

Op het merendeel van de bedrijven werd vleesvee geheel of gedeeltelijk aangevoerd (68%). Een klein deel van de bedrijven hanteerde een volledig gesloten bedrijfsvoering (15%) en bij 18% van de bedrijven werd geen vleesvee aangevoerd, maar wel andere dieren (zoogkoeien, dekstieren). Slechts twee bedrijven hanteerden een all-in/all-out systeem waarbij alle dieren per stal tegelijkertijd werden aan- en afgevoerd.

Op 160 bedrijven werden in 2016 dieren aangevoerd (mediaan 67 dieren, range 1-1100). Op 30% van deze bedrijven werd gebruik gemaakt van slechts één leverancier, bij andere bedrijven was er veel variatie in het aantal leveranciers (mediaan 3, range 1-250). Vleesveehouders maken ongeveer in gelijke mate gebruik van fokbedrijven als handelaars voor de aankoop van dieren (Figuur 3).



Figuur 3 Aanvoerroutes van vleesvee op de onderzochte vleesveebedrijven.

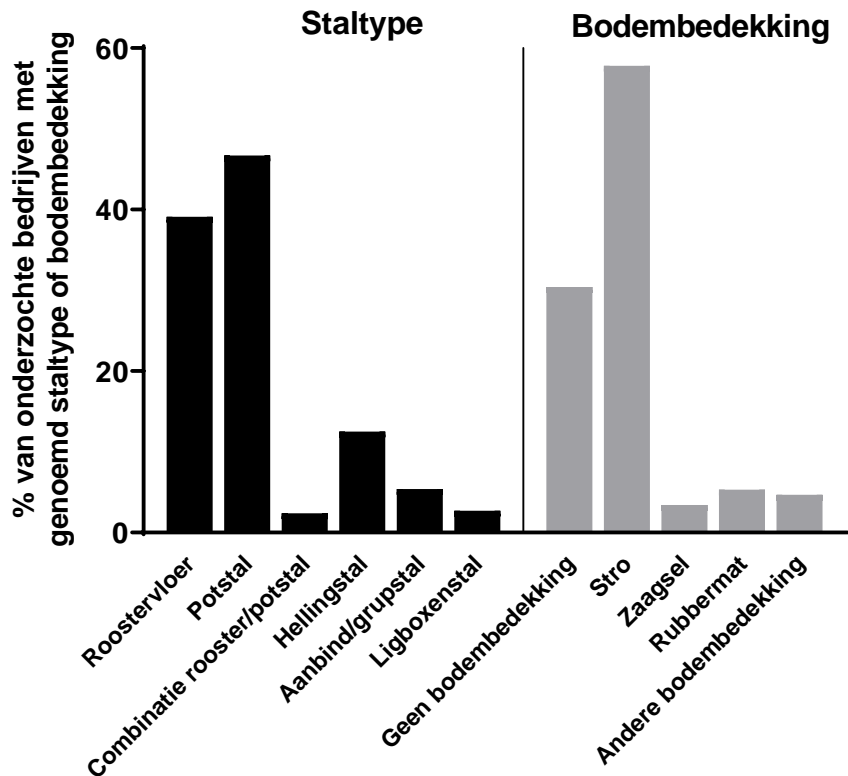
Vleesvee wordt zowel vanuit Nederland als het buitenland aangevoerd. Op 58% van de bedrijven is geen aanvoer van dieren uit het buitenland, terwijl bij 8% van de bedrijven alle dieren uit het buitenland komen. In de meeste gevallen worden dieren aangevoerd uit België (57 bedrijven), Frankrijk (36 bedrijven) of Luxemburg (11 bedrijven).

3.2.3 Huisvesting, weidegang en voeding

Op iets minder dan de helft van de vleesveebedrijven is één stal aanwezig (46%). Gemiddeld zijn er twee stallen per bedrijf aanwezig (range 1-9). Vragen over de huisvesting van de dieren zijn per monster gesteld, waardoor er verschillende antwoorden per bedrijf kunnen worden gegeven. De percentages in onderstaande paragraaf zijn daarom ook berekend op monsterniveau (n=1167) en niet op bedrijfsniveau.

Slechts een kleine hoeveelheid vleesveestallen heeft een uitloop (5% van bemonsterde stallen op 13 bedrijven). De stallen hebben in overgrote meerderheid natuurlijke ventilatie (95%). Wat betreft type huisvesting wordt vleesvee meestal in een potstal (47%) of een roostervloerstal (39%) gehouden (Figuur 4).

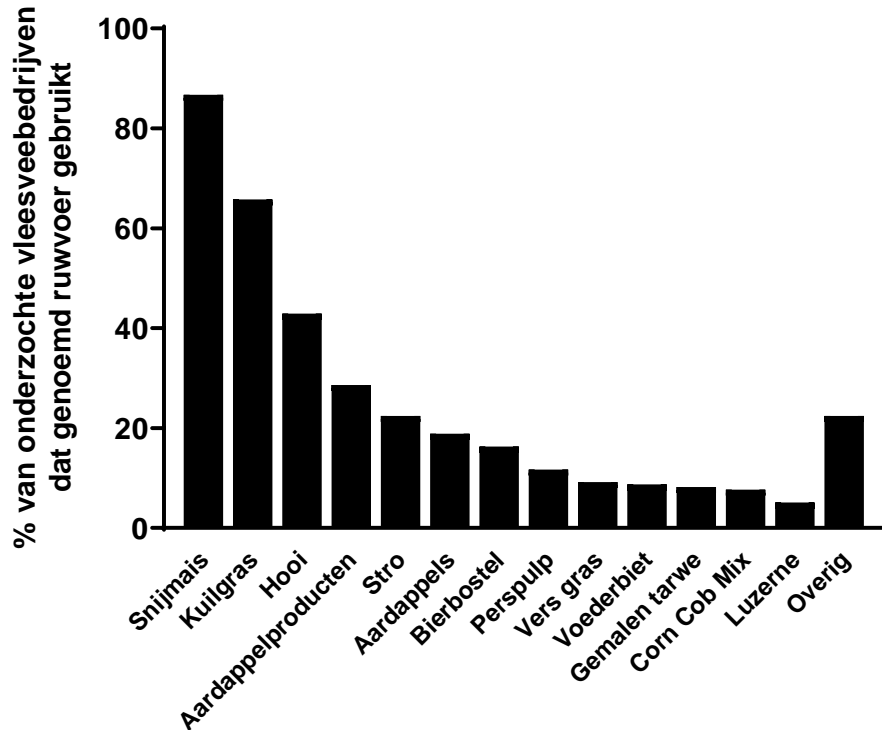
In 30% van de bemonsterde stallen wordt geen bodembedekking gebruikt. In het geval er bodembedekking wordt gebruikt, is dit meestal stro (58%, Figuur 4). In de stallen waar bodembedekking wordt gebruikt, wordt er meestal elke dag (61%) of meerdere keren per week (30%) nieuwe bodembedekking toegevoegd.



Figuur 4 Huisvesting (staltype en bodembedekking) van vleesvee op de onderzochte vleesveebedrijven.

Op de meerderheid van de onderzochte bedrijven loopt het vleesvee niet buiten (63,6%). Op de bedrijven waar (een deel van) de dieren buiten lopen, is de periode van weidegang gemiddeld 8 maanden (range 5-12). Op 18 bedrijven zijn mestmonsters op de weide genomen, van het totale aantal monsters is dit 5,7%. Op 3 bedrijven zijn alleen mestmonsters van de weide en geen monsters van stalmest genomen. In verreweg de meeste gevallen bestaat de weide uit grasland, in enkele gevallen (9 bedrijven) wordt een ander landschapstype genoemd (uiterwaarde, bos, heide, duinen).

Op verreweg de meeste bedrijven wordt meer dan één soort ruwvoer gebruikt. De meest gevoerde producten zijn snijmais (87%), kuilgras (66%) en hooi (43%) (Figuur 5).



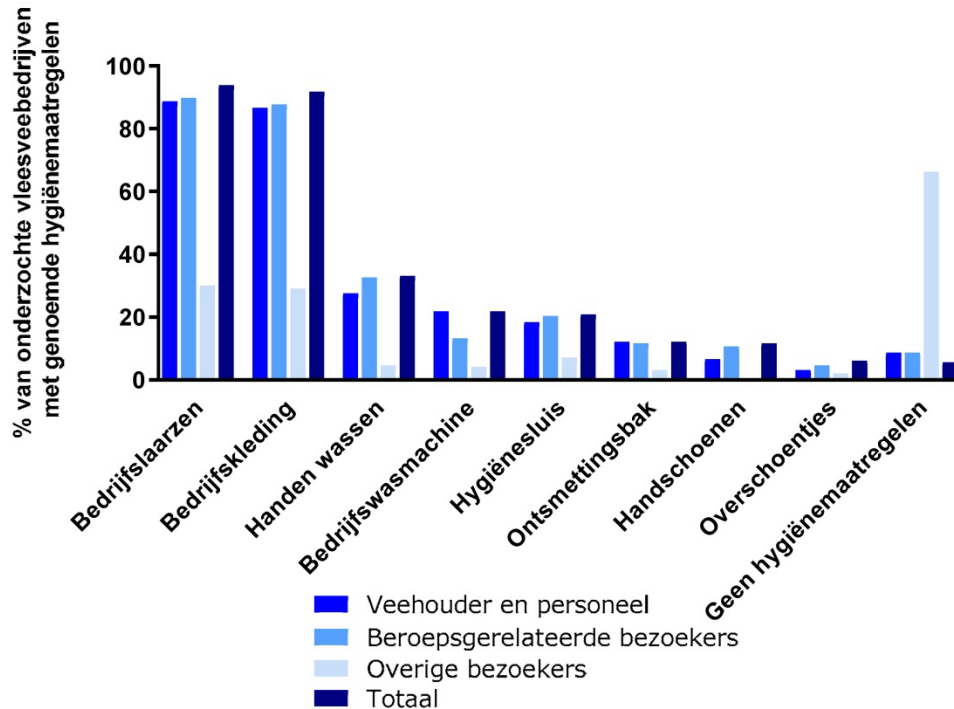
Figuur 5 Gebruik van verschillende typen ruwvoer op de onderzochte vleesveebedrijven.

Op stal wordt als drinkwatervoorziening het meest gebruik gemaakt van leidingwater (61%), op de weide wordt zowel gebruik gemaakt van leidingwater (30%) als grondwater (36%) of oppervlaktewater (47%).

3.2.4

Hygiëne

De gebruikte hygiënemaatregelen op de deelnemende vleesveebedrijven zijn weergegeven in Figuur 6. Op vrijwel alle bedrijven werden bedrijfslaarzen (94%) en/of bedrijfskleding (92%) gebruikt door de veehouder en personeel, beroepsgerelateerde bezoekers of overige bezoekers. Een hygiënesluis was aanwezig op 41 bedrijven (21%) en een ontsmettingsbak op 12%. Zeventien bedrijven (9%) gaven aan geen van de genoemde hygiënemaatregelen te gebruiken als veehouder. Ditzelfde percentage van de bedrijven gebruikte geen hygiënemaatregelen voor beroepsgerelateerde bezoekers.



Figuur 6 Toepassen van hygiënemaatregelen voor verschillende doelgroepen op de onderzochte vleesveebedrijven.

Van de beroepsgerelateerde bezoekers kwam de dierenarts verreweg het meest in de stallen (op 37% van de bedrijven maandelijks of vaker). Ook de veehandelaar werd genoemd als regelmatige bezoeker; op 76 bedrijven komt de handelaar maandelijks of vaker in de stal.

Op 17 bedrijven (9%) werden met enige regelmaat bezoekers ontvangen in het kader van een camping, rondleiding of verkoop van vleesproducten. Op 35% van deze 17 bedrijven werden geen hygiënemaatregelen voor deze bezoekers genomen. Op 4 van de 17 bedrijven kwamen de bezoekers niet in de stal en op 3 bedrijven werden de dieren niet aangeraakt door de niet-beroepsgerelateerde bezoekers.

Negenendertig vleesveehouders (20%) gaven aan dat er in 2016 problemen waren geweest met ongedierte of plaagdieren. Bij 25 bedrijven ging het om ratten, bij 16 bedrijven was er overlast van muizen en bij 15 bedrijven werden andere plaagdieren genoemd, zoals vliegen/muggen en vogels.

Op het merendeel van de bedrijven (89%) werden plaagdieren actief bestreden. In 46% van de bedrijven werden hiervoor katten ingezet. Ongediertebestrijding werd meestal (73-82%, afhankelijk van soort ongedierte) door de veehouder zelf uitgevoerd.

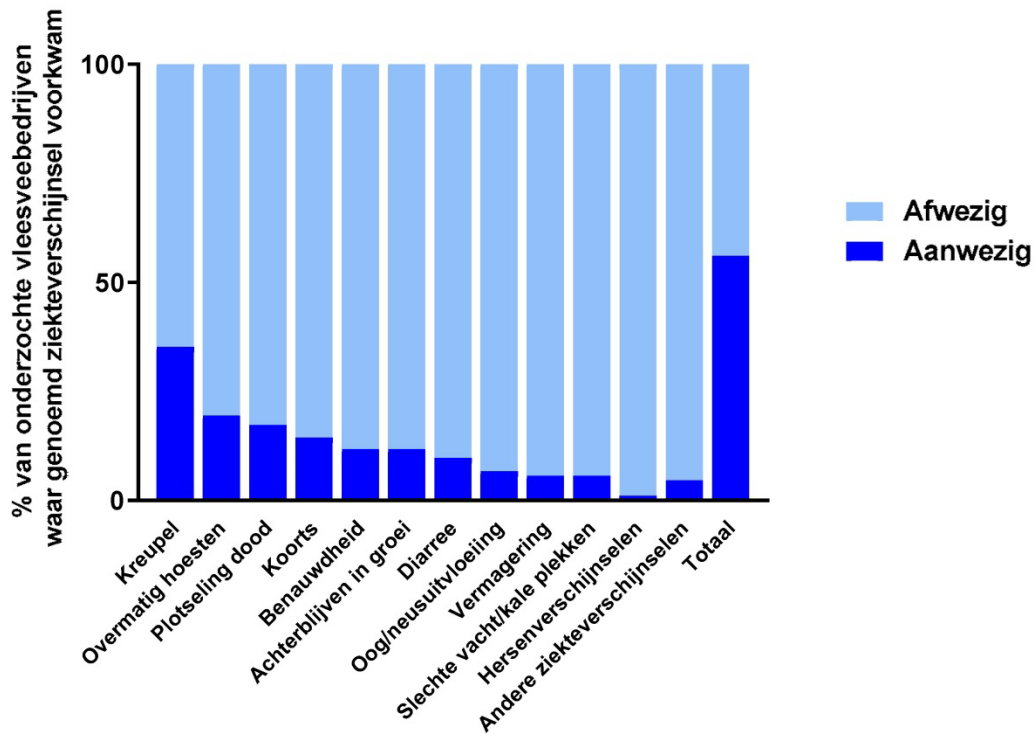
Nieuw aangevoerde dieren worden op 62% van de bedrijven eerst in quarantaine geplaatst, gemiddeld 54 dagen. In ongeveer evenveel gevallen is de quarantaine in een apart hok (31) als in een aparte stal (36).

Mest werd op het overgrote merendeel van de bedrijven (95%) gebruikt voor de bemesting van eigen weidegrond en/of akkers. Daarnaast werd op 34% van de bedrijven (een deel van) de mest afgevoerd. Op de vraag 'Voert u mest aan', werd in 38% van de bedrijven bevestigend geantwoord. In 65% van de gevallen was de aangevoerde mest afkomstig van runderen (of vleeskalveren), op 26 bedrijven werd varkensmest aangevoerd.

3.2.5

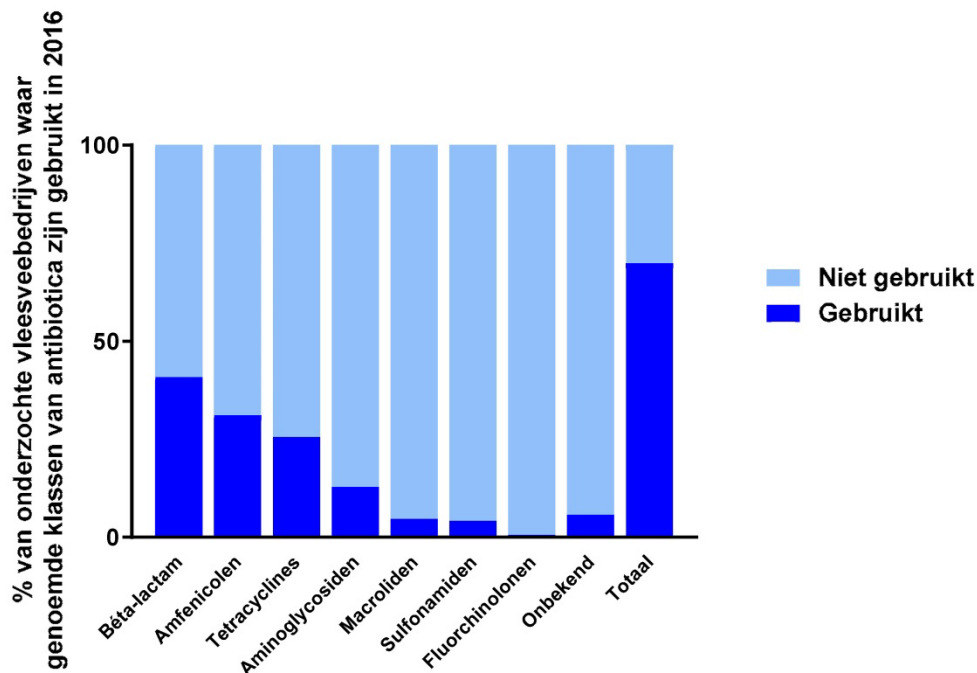
Diergezondheid

Op 56% van de bedrijven werden in 2016 één of meerdere ziekteverschijnselen waargenomen bij het vleesvee (Figuur 7). De meest voorkomende ziekteverschijnselen waren kreupelheid (35%), overmatig hoesten (19%) en plotselinge sterfte, waarbij hittestress, verhangen en aderbreuk werden genoemd als oorzaken (17%).



Figuur 7 Ziekteverschijnselen bij het vleesvee op de onderzochte bedrijven in 2016.

Op 70% van de vleesveebedrijven is in 2016 antibiotica gebruikt (Figuur 8). De meest gebruikte antibiotica zijn bèta-lactam antibiotica (41%) en amfenicolen (31%). Als redenen voor het gebruik van antibiotica werden vooral luchtweg- en longproblemen (42%) en pootproblemen (32%) genoemd. Antibioticagebruik voor een keizersnede of castratie kwam voor op 15% van de bedrijven.



Figuur 8 Gebruik van antibiotica op de onderzochte vleesveebedrijven in 2016.

Van de bedrijven die aangaven antibiotica te hebben gebruikt, was dit in ongeveer de helft van de gevallen (45%) één type antibiotica. Op de overige bedrijven waren in 2016 twee (32%) of méér (23%) types antibiotica toegepast. Gemiddeld werden er per bedrijf 13 dieren met antibiotica behandeld (range 1-150).

Op ongeveer de helft van de vleesveebedrijven (51,5%) werd gevaccineerd: 41,3% tegen pinkengriep, 28,6% tegen IBR (infectieuze bovine rhinotracheïtis), 9,2% tegen BVD (bovine virus diarree) en in mindere mate tegen longworm, diarree (Rotavec Corona), ringworm en blauwtong (allen minder dan 5%).

Op 15% van de bedrijven werd deelgenomen aan één of meer programma's van de Gezondheidsdienst voor Dieren. De meest gebruikte programma's waren BVD-aanpak (BVD-oorbiopten of Quickscan BVD, 8%), BVD-vrij certificering (5%), IBR-vrij certificering (5%) en Paratuberculose aanpak (5%).

Nieuwe dieren worden op 33% van de bedrijven bij aankomst behandeld. In de meeste gevallen gaat dit om ontwormen (18%), behandeling tegen schurft (15%) of luizen/mijten (15%) of een vaccinatie (17%).

Op 57% van de bedrijven worden maatregelen toegepast om worminfecties te voorkomen. In de meerderheid van de gevallen (52%) is dit door middel van ontwormingsmiddelen. Welke middelen hiervoor worden gebruikt is niet uitgevraagd.

3.3 Zoönotische pathogenen bij vleesvee

3.3.1 Prevalentie

Behalve *Cryptosporidium* zijn alle onderzochte zoönotische pathogenen aangetoond, met een prevalentie variërend van 3,6% voor *Salmonella* tot 85,5% voor *Campylobacter* (Tabel 1 en 2).

Tabel 1 Prevalentie van de onderzochte pathogenen in vleesvee op bedrijfsniveau

	Aantal bedrijven	Aantal positief	Prevalentie (%)	95% BI **
<i>Campylobacter</i>	193	165	85,5%	79,8-89,8
<i>Salmonella</i>	196	7	3,6%	1,7-7,2
ESBL-producerende <i>E. coli</i> *	192	28	14,6%	9,9-20,4
STEC (totaal)	193	48	24,9%	19,3-31,4
O157	193	8	4,1%	1,8-8,0
non-O157	193	42	21,8%	16,5-28,1
<i>Cryptosporidium</i>	195	0	0,0%	0,0-1,9

* Op 39 bedrijven werden ESBL-verdachte monsters gevonden, op 28 bedrijven werd dit moleculair bevestigd

** BI = betrouwbaarheidsinterval

Tabel 2 Prevalentie van de onderzochte pathogenen in vleesvee op monsterniveau

	Aantal monsters	Aantal positief	Prevalentie (%)	95% BI **
<i>Campylobacter</i>	1147	644	56,1%	53,3-59,0
<i>Salmonella</i>	1165	10	0,9%	0,5-1,6
ESBL-producerende <i>E. coli</i> #	1156	61	5,3%	4,1-6,7
STEC*	nvt	nvt	nvt	nvt
<i>Cryptosporidium</i> \$	270	0	0,0%	0,0-1,4

* STEC werd slechts in één monster per bedrijf getest, waardoor prevalentie op monsterniveau gelijk is aan prevalentie op bedrijfsniveau (Tabel 1)

** BI = betrouwbaarheidsinterval

In 81 monsters werden ESBL-verdachte koloniën gevonden. Bij 61 isolaten is dit moleculair bevestigd.

\$ *Cryptosporidium* is slechts in één of twee monsters per bedrijf getest.

3.3.2 Typering

3.3.2.1 *Campylobacter*

Een selectie van 97 isolaten van *Campylobacter* van de deelnemende vleesveebedrijven zijn getypeerd en onderzocht op de gevoeligheid voor een aantal antibiotica (Tabel 3 en 4). Van deze isolaten zijn 90 isolaten getypeerd als *C. jejuni* en 7 als *C. coli*.

Tabel 3 Percentage verminderde gevoeligheid (volgens EFSA guidelines) voor verschillende typen antibiotica van *C. jejuni* en *C. coli* geïsoleerd uit rundermest

Antibioticum	<i>C. jejuni</i> (n=90)	<i>C. coli</i> (n=7)
Ciprofloxacin	23,3%	28,6%
Erythromycine	1,1%	0,0%
Gentamicine	0,0%	0,0%
Naladixinezuur	25,6%	42,9%
Streptomycine	1,1%	14,3%
Tetracycline	17,8%	57,1%

Tabel 4 Verminderde gevoeligheid (volgens EFSA guidelines) van *C. jejuni* en *C. coli* geïsoleerd uit rundermest

	<i>C. jejuni</i> (n=90)	<i>C. coli</i> (n=7)
Gevoelig	66,7%	28,6%
Verminderd gevoelig voor 1 antibioticum	10,0%	42,7%
Verminderd gevoelig voor 2 antibiotica	13,3%	0,0%
Verminderd gevoelig voor 3 antibiotica	7,8%	14,3%
Verminderd gevoelig voor 4 antibiotica	2,2%	14,3%
Verminderd gevoelig voor >4 antibiotica	0,0%	0,0%

3.3.2.2 *Salmonella*

Op 7 vleesveebedrijven werd *Salmonella* aangetoond (Tabel 5). Op 4 bedrijven was één monster positief, op 3 bedrijven waren 2 monsters positief.

Tabel 5 Typering van *Salmonella* geïsoleerd uit rundermest

Serovar	Aantal monsters	Aantal bedrijven
<i>S. Montevideo</i>	3	2
<i>S. Typhimurium</i> monophasic 1,4,[5],12:i:-	2	2
<i>S. Dublin</i>	2	1
<i>S. Abortusequi</i>	2	1
<i>S. Cubana</i>	1	1

3.3.2.3 *ESBL-producerende E. coli*

Van de 81 ESBL-verdachte isolaten, zijn er 77 getypeerd met behulp van MLST en is het ESBL gen bepaald. In zeventien isolaten kon geen ESBL en/of AmpC-gen worden aangetoond. Eén van deze isolaten kon op basis van een disk-test toch als ESBL worden bevestigd. Uiteindelijk zijn er daarom 61 ESBL-producerende *E. coli* isolaten op 28 verschillende bedrijven gevonden.

In totaal werden er acht verschillende ESBL/AmpC-genen gevonden in 26 verschillende *E. coli* ST's (Tabel 6). Op drie bedrijven waar meerdere monsters ESBL positief waren, werd hetzelfde ESBL-gen in méér dan één ST gevonden. Enkele isolaten met gelijke ST's en gelijke ESBL/AmpC genen werden op meerdere bedrijven gevonden; zo werd *bla*_{CTX-M-15} in ST58 op vier bedrijven gevonden en *bla*_{CTX-M-15} in ST2325 en *bla*_{CTX-M-65} in ST683 op twee bedrijven.

Tabel 6 Typering van bevestigde ESBL-producerende *E. coli* geïsoleerd uit rundermest: ESBL/AmpC genen en *E. coli* sequentie types (ST)

ESBL/AmpC gen	Aantal bedrijven (n=28)	<i>E. coli</i> ST
CTX-M-1	10	10, 23, 69, 88, 162, 297, 515, 2325, 2425, 2521, 3995, 5451
CTX-M-15 ¹	8	58 (4x), 457, 949, 2325 (2x), 7483
CTX-M-65	3	683 (2x), 2179
CTX-M-14	3	38, 165, 448
CTX-M-2	2	59, 5409
CTX-M-32	1	744
SHV-12 ⁺ ²	3	10, 1146, 1252
CMY-2 ⁺ ²	1	38
Niet gevonden	1	457

¹ Op 2 bedrijven samen met CTX-M-65, op één bedrijf samen met CTX-M-1

² Geen onderscheid gemaakt tussen SHV-12 en SHV-129 en tussen CMY-2, CMY-22 en CMY-61

De 61 bevestigde isolaten zijn onderzocht op gevoeligheid voor antibiotica (Tabel 7 en 8). Alle isolaten waren verminderd gevoelig voor minstens twee van de geteste 12 antibioticaklassen. Er werd geen resistentie aangetroffen tegen colistine, tegen de carbapenem antibiotica meropenem, imipenem en ertapenem of tegen tigecycline.

Tabel 7 Percentage verminderde gevoeligheid (EFSA guidelines) voor verschillende typen antibiotica voor ESBL-producerende *E. coli* geïsoleerd uit rundermest

Antibioticum	% (n=61)
Ampicilline	100%
Cefotaxim	100%
Cefepime	98,4%
Ceftazidim	98,4%
Ciprofloxacin	54,1%
Tetracycline	50,9%
Sulfamethoxazole	32,8%
Trimethoprim	24,6%
Chlooramfenicol	24,6%
Naladixinezuur	6,6%
Cefoxitine	6,6%
Gentamycine	4,9%
Azithromycine	3,3%

Tabel 8 Verminderde gevoeligheid (volgens EFSA guidelines) van ESBL-producerende *E. coli* geïsoleerd uit rundermest

	% (n=61)
Gevoelig	0%
Verminderd gevoelig voor <3 antibiotica klassen	44,3%
Verminderd gevoelig voor 3 antibiotica klassen	11,5%
Verminderd gevoelig voor 4 antibiotica klassen	16,4%
Verminderd gevoelig voor >4 antibiotica klassen	27,9%

3.3.2.4 STEC

STEC werd in slechts één van de mestmonsters per bedrijf onderzocht. Op 48 vleesveebedrijven werd STEC aangetoond. Op 6 bedrijven werd méér dan een STEC isolaat aangetroffen, waardoor er uiteindelijk 54 unieke STEC isolaten zijn gevonden in deze studie.

Op 8 bedrijven werd de STEC variant O157:H7 aangetroffen (2 keer in combinatie met een ander, non-O157 isolaat). De verdere serotypering en prevalentie van genen binnen deze isolaten staan weergegeven in Tabel 9 en 10.

Tabel 9 Serotypering van STEC-isolaten uit rundermest

Serotype	Aantal isolaten
O157:H7	8
Non-O157	
O136:H12	8
O182:H25	4
O116:H28	3
O168:H8	3
O91:H21	2
O8:H30	2
O171:H2	2
O15:H16	2
O150:H2	2
Unieke isolaten	14
Niet (volledig) typeerbaar	4

Tabel 10 PCR detectie van *stx* en *eae* genen bij STEC-isolaten uit rundermest.

		Prevalentie		
		O157	non-O157	Totaal
Virulentie genen	<i>stx</i> ₁ + en <i>stx</i> ₂ +	50%	13%	19%
	alleen <i>stx</i> ₁ +	25%	43%	41%
	alleen <i>stx</i> ₂ +	25%	43%	41%
Aanhechtingsgen	<i>eae</i> +	63%	17%	24%

3.3.2.5 *Cryptosporidium*

Op géén van de bedrijven werd de aanwezigheid van *Cryptosporidium* bevestigd. Bij 23% van de monsters was de 18S PCR positief, maar bij géén van deze monsters werd ook met de confirmatie- en typerings-PCR (nested GP60) een positief signaal gevonden.

3.4 Beschrijvende statistiek humane deelnemers

In totaal hebben 129 deelnemers, afkomstig van 74 bedrijven, een vragenlijst ingevuld. Van deze deelnemers waren 44 vrouw en 85 man. De gemiddelde leeftijd was 51 jaar (range 17-80 jaar).

De meeste deelnemers waren zelf vleesveehouder (57%), of veehouder én gezinslid (5%). Verder waren 30 deelnemers (23%) alleen echtgeno(o)te/partner en 12 deelnemers (9%) alleen familielid (ouder of kind). Slechts 4 deelnemers (3%) waren alleen medewerker. De gemiddelde grootte van het huishouden van de deelnemers was 3,2 personen (range 1-7).

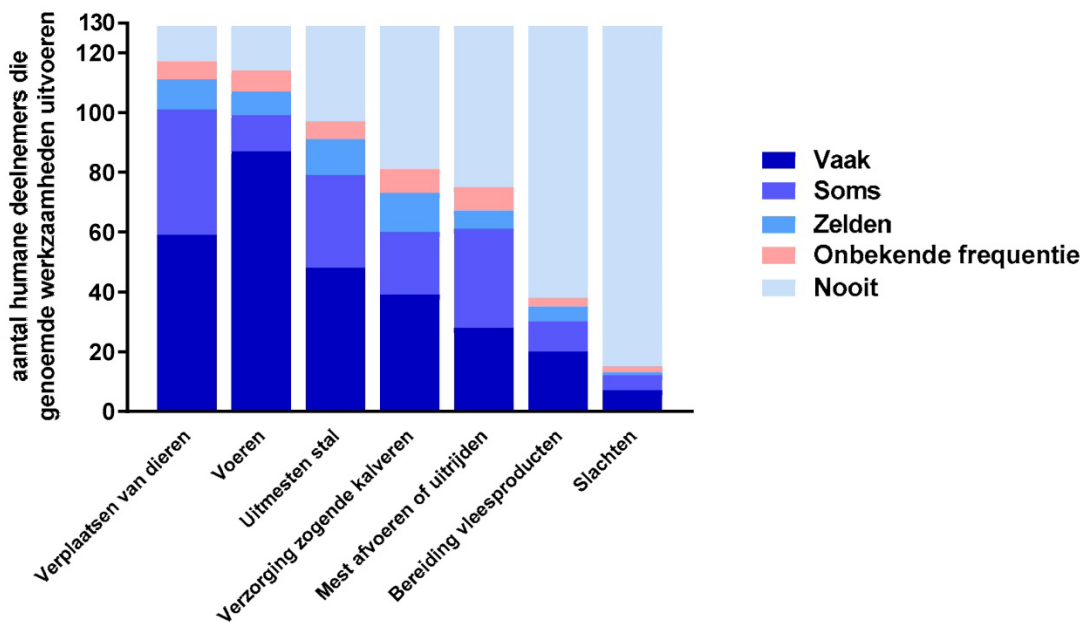
Het merendeel van de deelnemers (85%) was woonachtig op het vleesveebedrijf. Gemiddeld waren deelnemers 30 jaar werkzaam en/of woonachtig op het vleesveebedrijf (range 1- 70 jaar).

De meeste deelnemers kwamen vaak in de stallen van het vleesvee, 86% gaf aan 1 of meerdere keren per dag in de stallen te komen. Slechts 1,6% van de deelnemers kwam nooit in de stallen. In de meeste gevallen was er ook fysiek contact met het vleesvee, voor 80% van de deelnemers 1x per dag of vaker. Wederom was het een klein percentage (4%) wat aangaf nooit fysiek contact met het vleesvee te hebben.

Een aantal deelnemers bezocht ook regelmatig de stallen van andere vleesveebedrijven. Bijna 30% van de deelnemers gaven aan minimaal 1x per maand in de stal van een ander bedrijf te komen. Minder dan de helft van de deelnemers (44%) gaf aan nooit in een andere stal te komen.

Onder de deelnemers was er veel contact met andere diersoorten. Slechts 5% gaf aan nooit contact te hebben met andere soorten landbouwhuisdieren of gezelschapsdieren. Diersoorten waar veel contact mee was waren honden (82%), katten (58%), paarden/pony's (30%), vleeschapen (27%), pluimvee (27%) en melkvee (26%).

Werkzaamheden op het vleesveebedrijf werden door bijna alle deelnemers uitgevoerd. Slechts 3,9% gaf aan nooit werkzaamheden gerelateerd aan het vleesvee te verrichten. Het voeren van het vleesvee is de activiteit die het meest vaak wordt uitgevoerd door de deelnemers (Figuur 9), het uitmesten van de stal en verzorgen van kalveren gebeurde ook frequent.



Figuur 9 Werkzaamheden op vleesveebedrijven uitgevoerd door deelnemende veehouders, gezinsleden en werknemers.

Veel deelnemers (64%) assisteren ook bij het afkalven van het vleesvee. Elf deelnemers (25% van deelnemende vrouwen) hebben ooit geassisteerd met afkalven tijdens hun zwangerschap.

Ongeveer 1/3 van de deelnemers (33%) gebruikt handschoenen bij het uitvoeren van bepaalde werkzaamheden op het vleesveebedrijf. Het wassen van handen gebeurt vaker bij het verlaten dan bij het betreden van de stal. Van de deelnemers wast 37% de handen vaak of altijd na het verlaten van de stal, waar slechts 9% dit vóór het betreden van de stal doet.

3.5 Zoönotische pathogenen bij humane deelnemers

3.5.1 Prevalentie

Alle pathogenen behalve *Salmonella* zijn aangetoond bij de humane deelnemers aan dit onderzoek (Tabel 11). Bij twee personen werd *Campylobacter* aangetoond, bij één persoon werd STEC gevonden. De prevalentie van ESBL was het hoogst van de onderzochte zoönotische pathogenen, deze bacterie werd bij 9 deelnemers gevonden. Geen van de deelnemers was positief voor meer dan één van de onderzochte pathogenen.

Tabel 11 Prevalentie van de onderzochte pathogenen bij humane deelnemers

	Aantal deelnemers	Aantal positief	Afkomstig van aantal bedrijven	Prevalentie (%)	95% BI
<i>Campylobacter</i>	129	2	2	1,6%	0,4-5,5
<i>Salmonella</i>	129	0	0	0,0%	0,0-2,9
ESBL-producerende <i>E. coli</i>	129	9*	8	7,0%	3,2-12,8
STEC	129	1	1	0,8%	0,1-4,3
<i>Cryptosporidium</i>	129	1	1	0,8%	0,1-4,3

* Bij 13 humane deelnemers werden ESBL-verdachte koloniën gevonden. Bij 9 deelnemers is dit moleculair bevestigd. Eén isolaat kon niet worden onderzocht.

Deelname aan de humane studie was vergelijkbaar op positieve en negatieve bedrijven (Tabel 12; χ^2 -toets, p-waarde >0.05 voor alle drie pathogenen).

Tabel 12 Deelname aan de humane studie op positieve en negatieve vleesveebedrijven per pathogeen.

	Percentage positieve bedrijven met humane deelname (95% BI [*])	Percentage negatieve bedrijven met humane deelname (95% BI [*])
<i>Campylobacter</i>	36,3% (29,0-44,1%)	48,0% (30,0-66,5%)
ESBL-producerende <i>E. coli</i>	48,4% (30,2-66,9%)	36,0% (28,6-43,8%)
STEC	41,7% (27,6-56,8%)	36,6% (28,7-45,0%)

* BI=betrouwbaarheidsinterval

3.5.2 Typering

Bij twee deelnemers werd *Campylobacter* aangetroffen. In het ene geval werd het isolaat getypeerd als *Campylobacter lari*, in het andere geval werd *C. jejuni* gevonden. Op de bijbehorende bedrijven werd geen *Campylobacter* in de mestmonsters aangetroffen.

Bij 13 humane deelnemers van 10 verschillende bedrijven zijn ESBL-verdachte isolaten aangetroffen (Tabel 13). Bij drie humane deelnemers kon geen ESBL/AmpC gen worden aangetoond. Eén isolaat kon niet worden getest. In de mestmonsters van vier van deze bedrijven is eveneens ESBL aangetroffen. In één van deze gevallen komt zowel het *E. coli* ST als het ESBL gen overeen tussen het monster van de dieren en het humane monster. Dit type (*bla*_{CTX-M-65} in ST683) werd ook op een ander bedrijf in dieren gevonden (Tabel 6). In de andere drie gevallen was er geen sprake van overeenkomsten.

Tabel 13 Typering van ESBL-verdachte *E. coli* uit humane monsters vergeleken met de resultaten wat betreft ESBL-producerende *E. coli* van het vleesvee op bijbehorende bedrijf.

Code		Deelnemers op bedrijf	Humaan		Rundvee	
Deelnemer	Bedrijf		ESBL	ST	ESBL	ST
21	2	1	CTX-M-65	683	CTX-M-65	683
35	133	4	CTX-M-3	10	-	-
73	191	2	Niet gevonden	88	-	-
74			Niet gevonden	783		
123	72	4	CTX-M-14	69	CTX-M-1	2425
147	146	3	CTX-M-27/174	131	CTX-M-1	2325
168	109	3	CTX-M-15	162	-	-
169			CTX-M-32	224		
178	104	2	Niet getest		-	-
215	178	4	Niet gevonden	349	-	-
217			CTX-M-27/174	131		
219	162	3	CTX-M-15	1722	CTX-M-2	5409
224	179	3	CTX-M-3 & 15	131	-	-

Het enige bij deelnemers gevonden STEC isolaat behoort tot het serotype O103:H2, bezit het gen *stx*_{1a} en is *eae* positief. In het mestmonster van het bijbehorende bedrijf is geen STEC aangetroffen.

Bij één persoon werd *Cryptosporidium* aangetroffen met de multiplex PCR. Ondanks verschillende pogingen is het niet gelukt om de GP60 van dit isolaat te sequencen, waardoor geen verdere typering van het isolaat beschikbaar is.

4 Risicofactoren

4.1 Risicofactoren voor *Campylobacter* bij vleesvee

De risicofactoranalyse voor *Campylobacter* werd uitgevoerd op monsterniveau waarbij rekening werd gehouden met de clustering per bedrijf. Uit de univariate analyse kwamen een groot aantal factoren naar voren die geassocieerd waren met het voorkomen van *Campylobacter* in het monster (Bijlage 1). Een selectie van deze variabelen, op basis van biologische verklaarbaarheid en correlatie met andere variabelen, werd meegenomen in de multivariate analyse. In het definitieve model zijn 14 variabelen opgenomen en bleken 9 variabelen significant geassocieerd met het voorkomen van *Campylobacter* (Tabel 14).

Tabel 14 Variabelen geassocieerd met het voorkomen van *Campylobacter* bij het vleesvee op basis van multivariate risicofactoranalyse

Variabele	OR*	95% BI**	p-waarde
Kwartaal van monstername			0,001
Jan-Maart	1,00		
Apr-Juni	2,18	0,911-5,20	
Juli-Sept	2,27	1,03-5,01	
Okt-Dec	4,39	2,00-9,64	
Ziekteverschijnsel vermagering in de afgelopen 6 maanden gezien op bedrijf			0,002
Nee	1,00		
Ja	0,175	0,054-0,562	
Behandeling van aangevoerde dieren als maatregel tegen worminfecties			0,003
Nee	1,00		
Ja	2,88	1,42-5,84	
Varkens aanwezig op het bedrijf			0,009
Nee	1,00		
Ja	0,24	0,075-0,734	
Beweidingsschema in gebruik als maatregel tegen worminfecties			0,01
Nee	1,00		
Ja	0,26	0,092-0,748	
Geen hygiënemaatregelen voor overige bezoekers			0,011
Nee	1,00		
Ja	0,516	0,313-0,851	
Komt het strooisel van eigen bedrijf			0,011
Ja	1,00		
Deels	1,47	0,625-3,45	
Nee	2,62	1,23-5,55	
Geen gebruik van strooisel	3,07	1,36-6,93	

Variabele	OR*	95% BI**	p-waarde
Melkvee aanwezig op het bedrijf			0,022
Nee	1,00		
Ja	2,77	1,14-6,75	
Ziekteverschijnsel plotseling dood in de afgelopen 6 maanden gezien op bedrijf			0,027
Nee	1,00		
Ja	2,08	1,08-4,00	
Niet significant			
Gebruik van bedrijfskleding			0,051
Nee	1,00		
Ja	2,47	0,994-6,14	
Desinfectie van de bemonsterde stal			0,057
Nee	1,00		
Ja	2,89	0,914-9,13	
Mest gebruikt voor bemesting van eigen weidegrond of akkers			0,062
Nee	1,00		
Ja	3,01	0,87-10,44	
Monster genomen op de weide			0,072
Nee	1,00		
Ja	0,452	0,191-1,07	
Amfenicol-antibiotica gebruikt in het afgelopen jaar			0,62
Nee	1,00		
Ja	1,15	0,679-1,95	

* OR = odds ratio

** BI = betrouwbaarheidsinterval

4.2 Risicofactoren voor ESBL-producerende *E. coli* bij vleesvee

De risicofactoranalyse voor ESBL-producerende *E. coli* werd uitgevoerd op monsterniveau waarbij rekening werd gehouden met de clustering per bedrijf. Uit de univariate analyse kwamen acht factoren naar voren die geassocieerd waren ($p < 0,2$) met het voorkomen van ESBL-producerende *E. coli* in het monster (Bijlage 2). Al deze factoren zijn meegenomen in de multivariate analyse. In het definitieve model bleken vier variabelen geassocieerd met het voorkomen van ESBL-producerende *E. coli* (Tabel 15).

Tabel 15 Variabelen geassocieerd met het voorkomen van ESBL-producerende *E. coli* bij het vleesvee op basis van multivariate risicofactoranalyse

Variabele	OR*	95% BI**	p-waarde
Akkerbouw voor veehouderij als overige bedrijfstak			0,001
Nee	1,00		
Ja	3,86	0,716-20,81 ^{\$}	
Meest voorkomende vleesvee ras op het bedrijf			0,008
Belgisch Witblauw	1,00		
Blonde d'Aquitaine	0,176	0,031-0,991	
Limousin	0,1	0,003-3,65	
Ander ras	0,147	0,014-1,59	
Dekstieren aanwezig op het bedrijf			0,026
Nee	1,00		
Ja	7,71	1,75-33,85	
Aanwezigheid van katten in de bemonsterde stal			0,028
Nee	1,00		
Ja	3,85	0,932-15,88 ^{\$}	

^{\$} Voor het berekenen van de p-waarde en het 95% betrouwbaarheidsinterval zijn twee verschillende statistische testen gebruikt. Hierdoor is het mogelijk dat, zelfs in het geval van een p-waarde <0,05 het 95% BI niet volledig boven de 1,00 ligt.

* OR = odds ratio

** BI = betrouwbaarheidsinterval

4.3 Risicofactoren voor STEC bij vleesvee

Een monster per bedrijf is geanalyseerd op STEC, om die reden werd de risicofactoranalyse uitgevoerd op bedrijfsniveau. Uit de univariate analyse kwamen een groot aantal factoren naar voren die geassocieerd waren met het voorkomen van STEC op het bedrijf (Bijlage 3). Een selectie van deze variabelen, op basis van biologische verklaarbaarheid en correlatie met andere variabelen, werd meegenomen in de multivariate analyse. In het definitieve model bleken vier variabelen geassocieerd met het voorkomen van STEC (Tabel 16).

Tabel 16 Variabelen geassocieerd met het voorkomen van STEC bij het vleesvee op basis van multivariate risicofactoranalyse

Variabele	OR *	95% BI **	p-waarde
Geen ziekteverschijnselen in de afgelopen 6 maanden gezien op bedrijf			0,012
Nee	1,00		
Ja	2,44	1,21-5,07	
Aanwezigheid van vleeschapen op het bedrijf			0,03
Nee	1,00		
Ja	0,27	0,05-0,89	
Beweidingschema in gebruik als maatregel tegen worminfecties			0,038
Nee	1,00		
Ja	0,112	0,001-0,909	
Tuinbouw als overige bedrijfstak			0,039
Nee	1,00		
Ja	4,03	1,07-15,24	

* OR = odds ratio

** BI = betrouwbaarheidsinterval

5 Discussie

5.1 *Campylobacter*

5.1.1 *Prevalentie vleesvee*

De belangrijkste reden om *Campylobacter* op te nemen in dit onderzoek was het gebrek aan informatie over prevalentie bij vleesvee in Nederland. Thermofiele *Campylobacter* werd aangetroffen op 85,5% van de deelnemende bedrijven. Op monsterniveau lag de prevalentie lager, op 56,1%.

De prevalentie van *Campylobacter* bij vleesvee in de literatuur loopt sterk uiteen. Dit is waarschijnlijk een reflectie van de verschillende methoden van monsternamen (directe fecale bemonstering versus stalrest) en verschillende manieren van het houden van vleesvee (confined feeding operations/feedlots in Noord Amerika en Australië met soms duizenden dieren in een beperkte ruimte versus veelal kleinere, meer extensieve bedrijven in Europa). Een Spaanse studie uit 2007 is één van de weinige studies die de prevalentie op bedrijfsniveau aangeeft. De prevalentie in deze studie was 58,9% uit 124 bedrijven (Oporto et al., 2007), lager dan de 85,5% gevonden in onze studie.

Een deel van de *Campylobacter* isolaten zijn onderzocht op gevoeligheid voor een panel antibiotica. Vooral tegen ciprofloxacine en naladixic acid, beide quinolonen, vertoonden meer dan een kwart van de isolaten verminderde gevoeligheid. Deze percentages zijn relatief laag vergeleken bij resistentie in vleeskuikens (60-70% (Anonymous, 2018)). In een Franse studie naar *Campylobacter* isolaten uit vleesvee werden iets lagere resistentie percentages gevonden (14% voor zowel ciprofloxacine en naladixic acid, (Chatre et al., 2010)).

5.1.2 *Risicofactoren vleesvee*

In de multivariate analyse werden 9 significante risicofactoren gevonden voor de aanwezigheid van *Campylobacter* in het monster (Tabel 14). Enkele opvallende risicofactoren worden hier beschreven.

De aanwezigheid van melkvee op het vleesveebedrijf is in onze analyse een significante risicofactor voor het voorkomen van *Campylobacter* (OR 2,77). Deze risicofactor werd eerder beschreven in een studie uitgevoerd in Engeland en Wales (Ellis-Iversen et al., 2009). Daarnaast werd in Spanje een hogere *Campylobacter*-prevalentie gevonden in melkvee in vergelijking tot vleesvee, zowel op bedrijfs- als op dierniveau (Oporto et al., 2007).

In tegenstelling tot melkvee bleek de aanwezigheid van varkens op het bedrijf beschermend te zijn voor de aanwezigheid van *Campylobacter* bij het vleesvee (OR 0,24). Varkens vormen geen reservoir voor transmissie van *Campylobacter*, aangezien varkens voornamelijk *C. coli* bij zich dragen in tegenstelling tot *C. jejuni* bij runderen. Een studie van Boes et al. (2005) naar gemengde bedrijven in Denemarken bevestigt dat er geen transmissie van *Campylobacter* optrad tussen varkens en runderen op hetzelfde bedrijf. Het beschermende effect van varkens

heeft waarschijnlijk meer te maken met bedrijfsmanagement factoren zoals hygiënemaatregelen dan met de directe aanwezigheid van de varkens zelf. Voor het houden van varkens worden over het algemeen strengere hygiënenormen in acht genomen dan voor vleesvee, die op gemengde bedrijven wellicht kunnen doorwerken in de omgang met het vleesvee.

Het kwartaal waarin monstername heeft plaatsgevonden kwam als risicofactor naar voren in het definitieve model, waarbij alle kwartalen een hoger risico lieten zien dan het kwartaal januari-maart. Het risico was het hoogste voor het laatste kwartaal (oktober-december, OR 4,4). Humane *Campylobacter* infecties hebben een seizoensgebonden patroon met een piek in de lente of zomer in landen met een gematigd klimaat (Kovats et al., 2005). De verklaring voor dit patroon wordt gezocht in zowel de invloed van temperatuur op de bacterie zelf als ook de invloed van seizoen op voedselgewoontes (bv. BBQ) en recreatie. In verschillende dierlijke reservoirs van *Campylobacter* is ook gezocht naar seizoensafhankelijke prevalentie. Voor runderen (vlees- en melkvee) is in Groot-Brittannië beschreven dat er in het voor- en najaar twee pieken van *Campylobacter* voorkomen (Stanley et al., 1998). Een invloed van het kwartaal van monstername op de aanwezigheid van *Campylobacter* in onze studie is dan ook niet verrassend, maar het hoogste risico in de herfst ten opzichte van de winter is onverwacht.

Het gegeven dat bedrijven zonder hygiënemaatregelen voor niet-beroepsgerelateerde bezoekers ('Overige bezoekers') minder risico liepen op *Campylobacter* (OR 0,52) was eveneens verrassend. Het zou te verklaren zijn wanneer bedrijven die geen hygiënemaatregelen voor overige bezoekers melden, ook weinig overige bezoekers ontvingen. Dit bleek echter niet uit onze data. Daarnaast was de frequentie van overige bezoekers ook één van de variabelen in het univariate model en kwam hieruit niet significant naar voren.

Tenslotte bleek ook het gebruik van een beweidingsschema als middel tegen worminfecties beschermend voor *Campylobacter* bij vleesrunderen (OR 0,26). Ook voor STEC bleek deze maatregel beschermend. Het is regelmatig beschreven dat *Campylobacter* als micro-aerofiel organisme slechts korte tijd kan overleven in mest of bemeste grond (Sinton et al., 2007). Toch worden hier in recente publicaties wel kanttekeningen bij geplaatst door de opkomst van moleculaire detectiemethoden (Bronowski et al., 2014). Het is dus mogelijk dat door het gebruik van een beweidingsschema de transmissie van *Campylobacter* vanuit de bodem naar runderen wordt doorbroken.

5.1.3

Resultaten bij veehouders, medewerkers en gezinsleden

Bij twee humane deelnemers werd *Campylobacter* aangetoond. Alhoewel *Campylobacter* meestal niet voorkomt bij mensen zonder gastro-intestinale klachten (Kaarme et al., 2016), rapporteren deze twee deelnemers geen diarree of andere ziekteverschijnselen.

Bij één van de humane deelnemers werd de *Campylobacter* getypeerd als een *Campylobacter lari*. Dit type *Campylobacter* wordt voornamelijk geïsoleerd uit watervogels en schelpdieren, maar kan ook voor mensen pathogeen zijn (Matsuda, 2011).

5.1.4 *Risico voor de mens*

Een recente Nederlandse bronattributiestudie schat dat humane gevallen van campylobacteriose voor het grootste gedeelte (60-70%) kunnen worden toegeschreven aan pluimvee (Mughini Gras et al., 2012). Als tweede bron wordt rund genoemd (20-25%). Dit betreft de som van alle mogelijke besmettingsroutes en niet alleen de consumptie van besmet voedsel. Beroepsmatig contact met dieren wordt in deze studie als risicofactor genoemd voor de besmetting van *Campylobacter* vanuit runderen, maar niet vanuit pluimvee. Contact met runderen is ook in studies uit andere landen beschreven als risicofactor voor humane campylobacteriose, voornamelijk in rurale gebieden (Davis et al., 2013; Levesque et al., 2013).

Runderen lijken dus naast pluimvee een belangrijke bron voor humane *Campylobacter* infecties en de besmettingsroute is voornamelijk via direct contact, alhoewel dit niet direct blijkt uit onze studie, waar slechts bij één humane deelnemer een type *Campylobacter* (*C. jejuni*) werd gevonden die mogelijk van de runderen afkomstig is.

5.2 **Salmonella**

5.2.1 *Prevalentie vleesvee*

Salmonella is in deze surveillance opgenomen omdat de prevalentie bij Nederlandse vleesrunderen onbekend is. Er is geen verplichte *Salmonella* monitoring bij vleesrunderen, maar in 2013-2014 heeft de Gezondheidsdienst voor Dieren een serologische studie bij niet-melkgevende rundveebedrijven uitgevoerd. Er werd een seroprevalentie van 9,5% gevonden (Anonymous, 2015).

In deze microbiologische studie werd een lagere prevalentie gevonden: 3,6% op bedrijfsniveau en 0,9% op monsterniveau. Dit komt goed overeen met *Salmonella* prevalenties bij vleesvee die in de literatuur worden genoemd, waaronder 5,8% in Spanje en 3% in Noord-Ierland (Hurtado et al., 2017; Madden et al., 2007).

Op twee bedrijven is *S. Typhimurium* monophasic 1,4,[5],12:i:- gevonden. Dit serotype was in 2017 het tweede meest voorkomende serotype in humane infecties (Uiterwijk et al., 2018).

De overige gevonden serotypes behoren niet tot de belangrijkste voor mensen pathogene *Salmonella*, alhoewel *S. Dublin* en *S. Montevideo* in Nederland per jaar enkele keren bij mensen worden gevonden (Uiterwijk et al., 2018). Het serotype *S. Dublin* is daarnaast één van de belangrijkste pathogene *Salmonella* types bij runderen en kan leiden tot verminderde productie, longklachten, hoge koorts, diarree, abortus en sterfte (Nielsen, 2013).

5.2.2 *Risicofactoren vleesvee*

De prevalentie van *Salmonella* bij vleesvee is te laag om een risicofactoranalyse te kunnen uitvoeren.

5.2.3 *Risico voor de mens*

Van de vijf gevonden *Salmonella* serotypes in deze studies komen er drie met enige regelmaat ook in de humane *Salmonella* laboratoriumsurveillance voor: *S. Montevideo* en *S. Dublin* worden

gemiddeld minder dan 10 keer per jaar geïsoleerd, alhoewel er voor *S. Dublin* van 2014-2016 een significante verheffing werd gevonden (Uiterwijk et al., 2018). Het aantal geïsoleerde *S. Typhimurium* monophasic 1,4,[5],12:i:- is in de afgelopen 10 jaar sterk toegenomen en dit serotype was in 2017 het tweede meest voorkomende serotype in humane infecties.

Humane *Salmonella* infecties worden door een Nederlandse bronattribuïestudie slechts voor een klein deel (<10%) toegeschreven aan runderen (Mughini-Gras et al., 2014). Voor deze specifieke rundergerelateerde *Salmonella*-infecties is beroepsmatig contact met dieren echter wel een risicofactor. In onze studie werd echter geen *Salmonella* gevonden bij de humane deelnemers.

5.3 ESBL-producerende *E. coli*

5.3.1

Prevalentie vleesvee

ESBL-producerende *E. coli* zijn opgenomen in deze surveillance, omdat deze bacteriën veelvuldig voorkomen bij landbouwhuisdieren. Er is echter geen informatie over het voorkomen bij vleesrunderen op bedrijfsniveau. Er werd in deze studie een prevalentie van 14,6% op bedrijfsniveau gevonden en 5,3% op monsterniveau.

Voor andere landbouwhuisdieren wordt de aanwezigheid van ESBL-producerende *E. coli* regelmatig gemeten voor de MARAN rapportages. In 2017 was de prevalentie het hoogst bij vleeskalveren met 35%, bij melkkoeien werd een prevalentie van 10% gevonden (Anonymous, 2018).

De prevalentie in deze studie is veel lager dan een recente studie naar vleesvee in Duitsland. In die studie werden prevalenties van 41% op monsterniveau en 70% op bedrijfsniveau gevonden (op bedrijfsniveau ook inclusief overschoentjes en stofmonsters (Hille et al., 2017)). Dit in tegenstelling tot een studie in Zwitserse slachthuizen, waar slechts bij dieren afkomstig van 2,5% van de vleesveebedrijven ESBL-producerende *E. coli* werd aangetoond (Reist et al., 2013).

Bla_{CTX-M-1} is het meest voorkomende ESBL-gen bij verschillende soorten landbouwhuisdieren en ook in deze studie is *bla_{CTX-M-1}* het meest prevalent (Anonymous, 2018; Dorado-Garcia et al., 2018; Mevius et al., 2018). *Bla_{CTX-M-15}*, in deze studie het tweede meest voorkomende ESBL-gen, domineert ESBLs voorkomend bij mensen, maar wordt ook regelmatig gevonden bij vleeskalveren, melkkoeien en op rundvlees (Anonymous, 2018; Mevius et al., 2018). Daarnaast werd in onze studie het ESBL-gen *bla_{CTX-M-65}* 8 keer gevonden. In eerdere rapporten, zoals MARAN, wordt dit type ESBL ook voornamelijk bij rundvee beschreven (Anonymous, 2018).

5.3.2 *Risicofactoren vleesvee*

In de multivariate analyse werden vier risicofactoren gevonden voor de aanwezigheid van ESBL-producerende *E. coli* in het monster (Tabel 15): de aanwezigheid van katten in de bemonsterde stal, de aanwezigheid van dekstieren op het bedrijf, het hebben van akkerbouw voor veehouderij als bedrijfstak en aanwezigheid van Belgisch Witblauwe runderen als meest voorkomende ras op het bedrijf.

De aanwezigheid van katten werd in een eerdere studie naar ESBL-producerende bacteriën bij biologisch melkvee in Nederland in de univariate analyse als risicofactor gevonden, maar was in de multivariate analyse niet significant (Santman-Berends et al., 2017). Katten kunnen dragers zijn van ESBL-producerende *E. coli* en deze bacteriën ook fecaal uitscheiden, alhoewel de prevalentie vaak laag is (Hordijk et al., 2013; Melo et al., 2018). Door hun zwervende levensstijl is het denkbaar dat katten voor het vleesvee reservoirs en/of vectoren zijn van ESBL-producerende bacteriën uit de omgeving en de bacteriën verspreiden tussen de verschillende stallen.

De aanwezigheid van dekstieren en het houden van Belgische witblauwe runderen op het bedrijf zijn niet eerder beschreven als risicofactoren voor ESBL-producerende bacteriën op een bedrijf. Hier is ook geen duidelijke verklaring voor te vinden.

In een eerdere studie naar de aanwezigheid van ESBL-producerende *E. coli* op melkveebedrijven in Nederland in 2011 werd het gebruik van 3^e en 4^e generatie cephalosporines als risicofactor gevonden (Gonggrijp et al., 2016). Het veterinaire gebruik van deze antibiotica is inmiddels sterk beperkt en kwam in deze studie niet als risicofactor naar voren, evenmin als het gebruik van andere soorten antibiotica.

5.3.3 *Resultaten bij veehouders, medewerkers en gezinsleden*

In deze studie werd bij 9 humane deelnemers ESBL producerende *E. coli* aangetoond. De prevalentie van 6,9% wijkt niet af van prevalenties die worden gevonden in de algemene bevolking (Dorado-Garcia et al., 2018). Bij drie deelnemers werd de ESBL-producerende *E. coli* getypeerd als *bla*_{CTX-M-15}, het type dat het meest voorkomt bij mensen. *Bla*_{CTX-M-1}, eveneens een veel voorkomend ESBL-gen, werd in deze studie niet gevonden bij de humane deelnemers.

Op één bedrijf werd bij twee humane deelnemers ESBL aangetoond. Dit waren verschillende types, zowel wat betreft ESBL- gen als *E. coli* ST.

5.3.4 *Risico voor de mens*

In een recent gepubliceerde studie zijn ESBL isolaten uit een groot aantal Nederlandse reservoirs genetisch met elkaar vergeleken (Dorado-Garcia et al., 2018). Eén van de belangrijkste conclusies was dat de belangrijkste ESBL types uit mensen relatief minder vaak in dieren worden aangetroffen en de ESBL types uit dieren relatief weinig bij mensen worden aangetroffen. Dit suggereert dat landbouwhuisdieren niet de belangrijkste reservoirs zijn van ESBLs bij mensen. In deze studie werden vleesrunderen als reservoir niet specifiek meegenomen, maar wel isolaten uit ander rundvee (melkvee, vleeskalveren) en rundvlees uit de winkels.

Een uitzondering op deze conclusie zijn de veehouders. In tegenstelling tot de algemene bevolking vertonen ESBL isolaten uit deze groep wel veel overeenkomsten met die van de dieren. Direct contact met dieren is daarom waarschijnlijk een belangrijke besmettingsroute van ESBLs. Deze studies zijn uitgevoerd bij pluimvee- en varkenshouders (Dierikx et al., 2013; Dohmen et al., 2015; Huijbers et al., 2014). Onderzoek naar ESBL types bij rundveehouders is naar ons weten nog niet eerder uitgevoerd.

In de huidige studie werden op vier bedrijven bij zowel dieren als humane deelnemers ESBL-producerende *E. coli* aangetroffen. In één van deze vier gevallen werd hetzelfde ESBL type gevonden bij dier en mens, zowel wat betreft ESBL-gen (*bla_{CTX-M-65}*) en *E. coli* ST (683). Het is dus mogelijk dat hier sprake is geweest van transmissie tussen het vleesvee en de veehouder. Gedetailleerde whole genome sequencing (WGS) zou hier uitsluitsel over kunnen geven.

Het risico van ESBL-producerende *E. coli* uit vleesvee voor de algemene bevolking lijkt klein. Aangezien er in onze studie maar in één geval sprake was van mogelijke transmissie van vleesvee naar de mens, lijkt ook het risico voor veehouders, gezinsleden en medewerkers klein. Toch is dit op basis van deze kleine hoeveelheid data niet met zekerheid te zeggen.

5.4 STEC

5.4.1 Prevalentie vleesvee

STEC is in deze studie opgenomen omdat meermaals aangetoond is dat runderen een belangrijk reservoir zijn voor humane infecties. Desondanks is er weinig bekend over de prevalentie van STEC bij Nederlands vleesvee. In de huidige studie werd op 24,9% van de bedrijven STEC aangetroffen, in 4,1% van de gevallen was dit STEC O157.

STEC O157 is het meest bekende en onderzochte STEC serotype. Alhoewel er wereldwijd vele prevalentiestudies naar het voorkomen van STEC O157 bij rundvee zijn uitgevoerd, lopen de gevonden percentages uiteen (Hussein and Bollinger, 2005). Twee systematische reviews hebben een poging gedaan om een gemiddelde wereldwijde O157 prevalentie bij rundvee te berekenen en kwamen respectievelijk tot percentages van 6,2% en 5,7% (Islam et al., 2014; Rhoades et al., 2009). Deze percentages geven de prevalentie weer op het niveau van het individuele rund en zijn daarom lastig te vergelijken met onze studie waar prevalentie op bedrijfsniveau is berekend.

Op Nederlandse melkveebedrijven is van 1996-2005 onderzoek gedaan naar het voorkomen van STEC type O157. Gebruik makend van gepoolde mestmonsters werd een gemiddelde bedrijfsprevalentie van 8% gevonden (Berends et al., 2008). Dit is iets hoger dan de O157-prevalentie van 4,1% gevonden bij vleesveebedrijven in de huidige studie. Het is echter belangrijk te realiseren dat in de huidige studie gebruik is gemaakt van één mengmonster per bedrijf. Deze manier van monsternamen, in plaats van het testen van meerdere monsters of een pool van monsters, zou kunnen zorgen voor een onderschatting van de

werkelijke bedrijfsprevalentie, aangezien waarschijnlijk niet alle dieren binnen een bedrijf STEC uitscheiden.

Een studie naar non-O157 STEC types is onder Nederlands rundvee naar ons weten niet eerder uitgevoerd. De meest voorkomende non-O157 serotypes bij humane infecties in Nederland tussen 2007-2017 waren O26, O91, O103, O146 en O63 (Uiterwijk et al., 2018). Van deze typen werden er drie (O26, O91 en O103) ook in deze surveillance gevonden.

5.4.2 *Risicofactoren vleesvee*

In de multivariate analyse werden vier variabelen gevonden die waren geassocieerd met de aanwezigheid van STEC op het bedrijf (Tabel 16). De aanwezigheid van vleeschapen op het bedrijf en het gebruik van een beweidingsschema bleken beschermend te zijn, terwijl het niet zien van ziekteverschijnselen bij de runderen in de afgelopen 6 maanden en tuinbouw als bedrijfstak een risicofactor bleken voor STEC.

In de literatuur zijn vele risicofactoren voor de aanwezigheid van STEC bij (vlees)runderen beschreven, waaronder de aanwezigheid van varkens (Cernicchiaro et al., 2009; Gunn et al., 2007), een aanbindstal (Kuhnert et al., 2005; Lee et al., 2017) of het aantal runderen op het bedrijf (Gunn et al., 2007). In het merendeel van deze studies werd specifiek gekeken naar STEC O157. In onze studie zijn deze eerder beschreven risicofactoren niet teruggevonden.

De aanwezigheid van vleeschapen op het bedrijf bleek beschermend voor STEC bij de vleesrunderen (OR 0,27). In de Surveillance van melkgeiten en -schapen uit 2016 werd bij schapen een zeer hoge STEC prevalentie (100% op bedrijfsniveau) gevonden (Opsteegh et al., 2018). De STEC serotypen gevonden bij kleine herkauwers (melkschaap en -geit) waren zeer verschillend van de serotypen gevonden in deze studie bij vleesvee. Ook in studies uit andere landen wordt gemeld dat STEC serotypen bij runderen en schapen zeer verschillend zijn, zelfs wanneer zij op hetzelfde bedrijf voorkomen (Beutin et al., 1997; Urdahl et al., 2003). Het is daarom ook niet duidelijk via welk mechanisme de aanwezigheid van vleeschapen, vleesvee zou kunnen beschermen tegen STEC.

Het gebruik van een beweidingsschema als middel tegen worminfecties bleek beschermend voor STEC bij de vleesrunderen (OR 0,112). Ook voor *Campylobacter* bleek deze maatregel beschermend. In tegenstelling tot *Campylobacter* wordt algemeen aangenomen dat *E. coli* in het algemeen en STEC in het bijzonder lang kunnen overleven in bemeste grond. Overleving van meer dan 200 dagen is gemeten bij STEC O157 stammen (Franz et al., 2011). Het is denkbaar dat door gebruik van een beweidingsschema de transmissie van STEC vanuit de bodem naar de runderen wordt doorbroken.

5.4.3 *Resultaten bij veehouders, medewerkers en gezinsleden*

In deze surveillance werd bij één deelnemer STEC aangetroffen. Dit betrof het serotype O103:H2, een veel voorkomend non-O157 serotype (Uiterwijk et al., 2017). STEC bacteriën van dit serotype veroorzaakten in 2017 een uitbraak van gastro-enteritis in Duitsland en Oostenrijk (Mylius et al., 2018). Deze deelnemer rapporteerde geen ziekteverschijnselen.

In het mestmonster van het bijbehorende vleesveebedrijf werd geen STEC gevonden. De deelnemer gaf aan slechts zeer weinig bij andere vleesveebedrijven in de stallen te komen en hier nooit direct contact met de dieren te hebben.

5.4.4 *Risico voor de mens*

De STEC prevalentie gevonden onder humane deelnemers in deze studie was 0,8%. Er zijn weinig data beschikbaar om dit percentage mee te vergelijken, aangezien asymptomatisch dragerschap van STEC slechts zelden beschreven wordt (Urdahl et al., 2013). Een direct verband tussen serotypen bij mens en dier werd in deze studie niet gevonden.

Desondanks is in de literatuur rundvee meermaals aangewezen als risicofactor voor humane STEC infecties. Een recente Nederlandse bronattribuïestudie stelt dat humane STEC infecties voor zo'n 50% zijn toe te schrijven aan runderen (Mughini-Gras et al., 2017). Ook in een studie uit de Verenigde Staten werd contact met runderen als één van de grootste risicofactoren voor een STEC infectie gevonden (Kassenborg et al., 2004). Daarnaast is de runderdichtheid van een gebied geassocieerd met aantallen STEC (O157) infecties. Dit verband werd in studies uit meerdere landen gelegd, waaronder Nederland, Duitsland en Canada (Frank et al., 2008; Friesema et al., 2011; Valcour et al., 2002).

STEC werd in 2017 door de NVWA op 2,2% van vers rundvlees in de detailhandel gevonden (Uiterwijk et al., 2018). Het eten van (rauw) rundvlees wordt, naast het contact met runderen zelf, regelmatig als risicofactor voor STEC infecties gevonden (Kassenborg et al., 2004; McPherson et al., 2009; Mughini-Gras et al., 2017).

5.5 ***Cryptosporidium***

5.5.1 *Prevalentie vleesvee*

Cryptosporidium is in deze studie opgenomen omdat het een regelmatig voorkomende oorzaak is van gastro-enteritis bij de mens, en ook bij herkauwers veel kan voorkomen. Over het vóórkomen van deze parasiet bij vleesvee in Nederland is vrijwel niets bekend. In deze studie werd bij geen van de deelnemende bedrijven *Cryptosporidium* bevestigd.

Cryptosporidium is een parasiet die voornamelijk bij jonge dieren tot klinische symptomen leidt. In kalveren worden dan ook regelmatig hoge prevalenties beschreven. Zo werd er in 2010 bij 28% van Nederlandse melkveekalveren jonger dan 21 dagen *C. parvum* gevonden (Bartels et al., 2010). In Frankrijk werden kalveren van 3 dagen tot 1 maand oud wekelijks bemonsterd. Bij meer dan 92% van deze dieren werd minstens één keer *Cryptosporidium* in de mest gevonden, waarvan meer dan de helft *C. parvum* (Rieux et al., 2014).

In deze studie werden alleen dieren van 6 maanden of ouder bemonsterd. Prevalenties bij volwassen runderen die worden gemeld zijn over het algemeen veel lager dan bij kalveren, zoals de prevalentie van *C. parvum* van 1,1% bij volwassen vleesvee in de VS (Hoar et al., 2001).

In 63 monsters (23%) werd na de 18S qPCR een positief signaal gevonden, maar dit signaal werd bij géén van de monsters bevestigd

door de GP60-typerings PCR. Een verklaring hiervoor zou kunnen zijn dat de 18S qPCR niet specifiek genoeg is en heeft geleid tot amplificatie van non-*Cryptosporidium* organismen en dus foutpositieve qPCR uitslagen. Deze methode is namelijk gevalideerd voor het gebruik in humane samples, en niet voor runderen. Dit werd bevestigd door de vele aspecifieke DNA sequenties na sequencing van de 18S-positieve PCR signalen.

Met de huidige beschikbare testen lijkt het zeer lastig om het vóórkomen van *Cryptosporidium* bij gezonde, volwassen runderen vast te stellen. Omdat de uitscheidingsniveau's waarschijnlijk zeer laag zijn, zou een aanbeveling zijn om een concentratiestap uit te voeren voor de PCR of een methode te ontwikkelen waarbij een grotere hoeveelheid mest kan worden onderzocht (capture PCR).

5.5.2 *Resultaten bij veehouders, medewerkers en gezinsleden*

In deze surveillance werd bij één deelnemer *Cryptosporidium* aangetroffen. Ondanks herhaalde pogingen is het niet gelukt om de GP60 van dit isolaat te sequencen, waardoor verdere typering van het isolaat niet beschikbaar is.

In het mestmonster van het bijbehorende vleesveebedrijf werd, zoals op alle deelnemende bedrijven, geen *Cryptosporidium* gevonden. Op het betreffende bedrijf was nog een humane deelnemer, die niet positief is bevonden voor *Cryptosporidium*. De positieve deelnemer gaf aan naast contact met vleesvee ook regelmatig in aanraking te komen met vleeskalveren en vleeschapen die potentieel bron van de *Cryptosporidium* besmetting kunnen zijn geweest. In de vragenlijst gaf de positieve deelnemer aan op het moment van monstername diarree te hebben, wat heel waarschijnlijk met de gevonden *Cryptosporidium*-infectie te maken kan hebben.

5.5.3 *Risico voor de mens*

In deze studie werd een *Cryptosporidium* prevalentie van 0,8% gevonden. In een eerdere studie op basis van microscopie werd een prevalentie van 2-3% gevonden bij patiënten met gastro-enteritis en 0,2% bij gezonde volwassenen (de Wit et al., 2001).

Het is bekend dat herkauwers (waaronder runderen) zoönotische subtypes van *Cryptosporidium* bij zich kunnen dragen (Wielinga et al., 2008). Helaas was het niet mogelijk om het humane *Cryptosporidium*-isolaat uit deze studie te typeren en te achterhalen of het overeenkwam met types die eerder in runderen zijn gevonden.

Contact met runderen is een bekende risicofactor voor humane cryptosporidose (Lengerich et al., 1993). In de huidige studie werd bij het volwassen vleesvee met de huidige methoden geen *Cryptosporidium* aangetoond. Het risico voor de mens op *Cryptosporidium* vanuit de vleesveehouderij in Nederland lijkt dan ook beperkt.

6 Conclusie

In deze studie werd op het merendeel van de vleesveebedrijven *Campylobacter* aangetroffen. STEC was op een kwart van de bedrijven aanwezig. Deze bacteriën vormen een potentieel risico voor de consument bij consumptie van rundvlees en voor veehouders en bezoekers door direct contact met het vleesvee. Contact met runderen of wonen in een gebied met een hoge dichtheid van runderen is voor zowel *Campylobacter* en STEC als risicofactor beschreven (Davis et al., 2013; Friesema et al., 2011; Levesque et al., 2013). Bij de humane deelnemers in deze studie (veehouders, gezinsleden en medewerkers) werd bij één deelnemer STEC aangetroffen en bij één deelnemer *C. jejuni*. In beide gevallen werden deze pathogenen niet gevonden bij de runderen op hun bedrijf. Dit betekent niet dat transmissie via direct of indirect contact kan worden uitgesloten, aangezien de mate van overleving van *Campylobacter* bij de verzending van humane ontlasting per post onbekend is.

ESBL-producerende *E. coli* en *Salmonella* zijn aangetoond op een kleiner aantal bedrijven. In het geval van ESBL-producerende *E. coli* werd in één geval een overeenkomst gevonden tussen het type bacterie bij dier en mens, wat kan wijzen op directe transmissie tussen vleesvee en veehouder. Bij de acht overige humane deelnemers met ESBL-producerende *E. coli* werd geen overeenkomst gevonden. Wat betreft *Salmonella* werden op enkele bedrijven *Salmonella*-typen gevonden die ook met enige regelmaat bij humane patiënten worden aangetroffen. Bij de humane deelnemers werd geen *Salmonella* gevonden.

Cryptosporidium werd in deze studie bij het vleesvee niet gevonden, maar de vraag blijft of de lage uitscheidingsniveaus die van deze parasiet te verwachten zijn bij volwassen runderen met de gebruikte methode kunnen worden aangetoond.

Er zijn risicofactoranalyses uitgevoerd voor het voorkomen van *Campylobacter*, ESBL-producerende *E. coli* en STEC. Het vinden van een associatie in een risicofactoranalyse betekent niet automatisch een causaal verband tussen de variabele en het pathogeen, maar kan wel een aanleiding zijn voor vervolgonderzoek. Voor zowel *Campylobacter* als STEC kwam het gebruik van een beweidingsschema als maatregel tegen worminfecties als beschermende maatregel naar voren. Het is mogelijk dat door het gebruik van een beweidingsschema de transmissie van deze pathogenen vanuit de grond naar het vleesvee wordt gereduceerd. Ook de aanwezigheid van andere diersoorten kwam in de risicofactoranalyse van alle drie pathogenen naar voren. Voor *Campylobacter* was de aanwezigheid van melkvee een risico en de aanwezigheid van varkens beschermend, voor ESBL-producerende *E. coli* was de aanwezigheid van katten een risicofactor en voor STEC de aanwezigheid van vleeschapen. Over de transmissie van deze pathogenen tussen verschillende diersoorten is relatief weinig bekend, waardoor niet duidelijk is of hier werkelijk sprake is van een oorzakelijk verband of van een correlatie met andere variabelen.

Deze studie is voor zover bekend de eerste brede inventarisatie van zoönotische pathogenen op vleesveebedrijven in Nederland. De studie bevestigt dat er op vleesveebedrijven zoönotische pathogenen voorkomen die via rundvlees en direct of indirect contact kunnen worden overgedragen op de mens.

7 Referenties

- Anonymous 2015. Monitoring Diergezondheid Jaarverslag 2015 (Gezondheidsdienst voor Dieren, Deventer).
- Anonymous 2018. MARAN 2018 - Monitoring of Antimicrobial Resistance and Antimicrobial Usage in animal in The Netherlands, 2017.
- Bartels, C.J., Holzhauser, M., Jorritsma, R., Swart, W.A., Lam, T.J., 2010. Prevalence, prediction and risk factors of enteropathogens in normal and non-normal faeces of young Dutch dairy calves. *Preventive Veterinary Medicine* 93, 162-169.
- Berends, I.M., Graat, E.A., Swart, W.A., Weber, M.F., van de Giessen, A.W., Lam, T.J., Heuvelink, A.E., van Weering, H.J., 2008. Prevalence of VTEC O157 in dairy and veal herds and risk factors for veal herds. *Preventive Veterinary Medicine* 87, 301-310.
- Beutin, L., Geier, D., Zimmermann, S., Aleksic, S., Gillespie, H.A., Whittam, T.S., 1997. Epidemiological relatedness and clonal types of natural populations of *Escherichia coli* strains producing Shiga toxins in separate populations of cattle and sheep. *Applied and Environmental Microbiology* 63, 2175-2180.
- Boes, J., Nersting, L., Nielsen, E.M., Kranker, S., Enoe, C., Wachmann, H.C., Baggesen, D.L., 2005. Prevalence and diversity of *Campylobacter jejuni* in pig herds on farms with and without cattle or poultry. *Journal of Food Protection* 68, 722-727.
- Bronowski, C., Winstanley, C., James, C.E., 2014. Role of environmental survival in transmission of *Campylobacter jejuni*. *FEMS microbiology letters* 356, 8-19.
- Cernicchiaro, N., Pearl, D.L., Ghimire, S., Gyles, C.L., Johnson, R.P., LeJeune, J.T., Ziebell, K., McEwen, S.A., 2009. Risk factors associated with *Escherichia coli* O157:H7 in Ontario beef cow-calf operations. *Preventive Veterinary Medicine* 92, 106-115.
- Chalmers, R.M., Robinson, G., Hotchkiss, E., Alexander, C., May, S., Gilray, J., Connelly, L., Hadfield, S.J., 2017. Suitability of loci for multiple-locus variable-number of tandem-repeats analysis of *Cryptosporidium parvum* for inter-laboratory surveillance and outbreak investigations. *Parasitology* 144, 37-47.
- Chatre, P., Haenni, M., Meunier, D., Botrel, M.A., Calavas, D., Madec, J.Y., 2010. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from cattle between 2002 and 2006 in France. *Journal of Food Protection* 73, 825-831.
- Dallenne, C., Da Costa, A., Decre, D., Favier, C., Arlet, G., 2010. Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important beta-lactamases in Enterobacteriaceae. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 65, 490-495.
- Davis, M.A., Moore, D.L., Baker, K.N., French, N.P., Patnode, M., Hensley, J., Macdonald, K., Besser, T.E., 2013. Risk factors for campylobacteriosis in two Washington state counties with high numbers of dairy farms. *Journal of clinical microbiology* 51, 3921-3927.

- de Wit, M.A., Koopmans, M.P., Kortbeek, L.M., Wannet, W.J., Vinje, J., van Leusden, F., Bartelds, A.I., van Duynhoven, Y.T., 2001. Sensor, a population-based cohort study on gastroenteritis in the Netherlands: incidence and etiology. *American journal of epidemiology* 154, 666-674.
- Dierikx, C., Duijkeren, E., Gijsbers, E., Van Hoek, A.H., Hengeveld, P.D., Veenman, C., De Greeff, S.C., Meijs, A. 2018. Onderzoek naar ESBL-producerende bacteriën onder vegetariërs en niet-vegetariërs : de Vegastudie (Bilthoven, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu), p. 44.
- Dierikx, C., van der Goot, J., Fabri, T., van Essen-Zandbergen, A., Smith, H., Mevius, D., 2013. Extended-spectrum-beta-lactamase- and AmpC-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in Dutch broilers and broiler farmers. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 68, 60-67.
- Dohmen, W., Bonten, M.J., Bos, M.E., van Marm, S., Scharringa, J., Wagenaar, J.A., Heederik, D.J., 2015. Carriage of extended-spectrum beta-lactamases in pig farmers is associated with occurrence in pigs. *Clinical Microbiology and Infection* 21, 917-923.
- Dorado-Garcia, A., Smid, J.H., van Pelt, W., Bonten, M.J.M., Fluit, A.C., van den Bunt, G., Wagenaar, J.A., Hordijk, J., Dierikx, C.M., Veldman, K.T., de Koeijer, A., Dohmen, W., Schmitt, H., Liakopoulos, A., Pacholewicz, E., Lam, T., Velthuis, A.G., Heuvelink, A., Gonggrijp, M.A., van Duijkeren, E., van Hoek, A., de Roda Husman, A.M., Blaak, H., Havelaar, A.H., Mevius, D.J., Heederik, D.J.J., 2018. Molecular relatedness of ESBL/AmpC-producing *Escherichia coli* from humans, animals, food and the environment: a pooled analysis. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 73, 339-347.
- Ellis-Iversen, J., Pritchard, G.C., Wooldridge, M., Nielen, M., 2009. Risk factors for *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in young cattle on English and Welsh farms. *Preventive Veterinary Medicine* 88, 42-48.
- Evers, E.G., Pielaat, A., Smid, J.H., van Duijkeren, E., Vennemann, F.B., Wijnands, L.M., Chardon, J.E., 2017. Comparative Exposure Assessment of ESBL-Producing *Escherichia coli* through Meat Consumption. *PLoS ONE* 12, e0169589.
- Fournet, N., Deege, M.P., Urbanus, A.T., Nichols, G., Rosner, B.M., Chalmers, R.M., Gorton, R., Pollock, K.G., van der Giessen, J.W., Wever, P.C., Dorigo-Zetsma, J.W., Mulder, B., Mank, T.G., Overdeest, I., Kusters, J.G., van Pelt, W., Kortbeek, L.M., 2013. Simultaneous increase of *Cryptosporidium* infections in the Netherlands, the United Kingdom and Germany in late summer season, 2012. *Euro surveillance : bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin* 18.
- Frank, C., Kapfhammer, S., Werber, D., Stark, K., Held, L., 2008. Cattle density and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection in Germany: increased risk for most but not all serogroups. *Vector borne and zoonotic diseases (Larchmont, N.Y.)* 8, 635-643.

- Franz, E., van Hoek, A.H., Bouw, E., Aarts, H.J., 2011. Variability of *Escherichia coli* O157 strain survival in manure-amended soil in relation to strain origin, virulence profile, and carbon nutrition profile. *Applied and Environmental Biology* 77, 8088-8096.
- Friesema, I.H., Schimmer, B., Ros, J.A., Ober, H.J., Heck, M.E., Swaan, C.M., de Jager, C.M., Peran i Sala, R.M., van Pelt, W., 2012. A regional *Salmonella enterica* serovar Typhimurium outbreak associated with raw beef products, The Netherlands, 2010. *Foodborne Pathogens and Disease* 9, 102-107.
- Friesema, I.H., van de Kasstele, J., de Jager, C.M., Heuvelink, A.E., van Pelt, W., 2011. Geographical association between livestock density and human Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 infections. *Epidemiology & Infection* 139, 1081-1087.
- Friesema, I.H.M., Schotsborg, M., Heck, M.E.O.C., Van Pelt, W., 2015. Risk factors for sporadic Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 and non-O157 illness in the Netherlands, 2008-2012, using periodically surveyed controls. *Epidemiology & Infection* 143, 1360-1367.
- Gonggrijp, M.A., Santman-Berends, I., Heuvelink, A.E., Buter, G.J., van Schaik, G., Hage, J.J., Lam, T., 2016. Prevalence and risk factors for extended-spectrum beta-lactamase- and AmpC-producing *Escherichia coli* in dairy farms. *Journal of dairy science* 99, 9001-9013.
- Gunn, G.J., McKendrick, I.J., Ternent, H.E., Thomson-Carter, F., Foster, G., Synge, B.A., 2007. An investigation of factors associated with the prevalence of verocytotoxin producing *Escherichia coli* O157 shedding in Scottish beef cattle. *Veterinary journal (London, England : 1997)* 174, 554-564.
- Hadfield, S.J., Robinson, G., Elwin, K., Chalmers, R.M., 2011. Detection and differentiation of *Cryptosporidium* spp. in human clinical samples by use of real-time PCR. *Journal of clinical microbiology* 49, 918-924.
- Hannon, S.J., Allan, B., Waldner, C., Russell, M.L., Potter, A., Babiuk, L.A., Townsend, H.G., 2009. Prevalence and risk factor investigation of *Campylobacter* species in beef cattle feces from seven large commercial feedlots in Alberta, Canada. *Canadian journal of veterinary research = Revue canadienne de recherche veterinaire* 73, 275-282.
- Hille, K., Ruddat, I., Schmid, A., Hering, J., Hartmann, M., von Munchhausen, C., Schneider, B., Messelhausser, U., Friese, A., Mansfeld, R., Kasbohrer, A., Hormansdorfer, S., Roesler, U., Kreienbrock, L., 2017. Cefotaxime-resistant *E. coli* in dairy and beef cattle farms-Joint analyses of two cross-sectional investigations in Germany. *Preventive Veterinary Medicine* 142, 39-45.
- Hoar, B.R., Atwill, E.R., Elmi, C., Farver, T.B., 2001. An examination of risk factors associated with beef cattle shedding pathogens of potential zoonotic concern. *Epidemiology & Infection* 127, 147-155.

- Hordijk, J., Schoormans, A., Kwakernaak, M., Duim, B., Broens, E., Dierikx, C., Mevius, D., Wagenaar, J.A., 2013. High prevalence of fecal carriage of extended spectrum beta-lactamase/AmpC-producing Enterobacteriaceae in cats and dogs. *Frontiers in microbiology* 4, 242.
- Huijbers, P.M., Graat, E.A., Haenen, A.P., van Santen, M.G., van Essen-Zandbergen, A., Mevius, D.J., van Duijkeren, E., van Hoek, A.H., 2014. Extended-spectrum and AmpC beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in broilers and people living and/or working on broiler farms: prevalence, risk factors and molecular characteristics. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 69, 2669-2675.
- Hurtado, A., Oejo, M., Oporto, B., 2017. *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* shedding in domestic ruminants and characterization of potentially pathogenic strains. *Veterinary Microbiology* 210, 71-76.
- Hussein, H.S., Bollinger, L.M., 2005. Prevalence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beef cattle. *Journal of Food Protection* 68, 2224-2241.
- Islam, M.Z., Musekiwa, A., Islam, K., Ahmed, S., Chowdhury, S., Ahad, A., Biswas, P.K., 2014. Regional variation in the prevalence of *E. coli* O157 in cattle: a meta-analysis and meta-regression. *PLoS ONE* 9, e93299.
- Jensen, A.N., Andersen, M.T., Dalsgaard, A., Baggesen, D.L., Nielsen, E.M., 2005. Development of real-time PCR and hybridization methods for detection and identification of thermophilic *Campylobacter* spp. in pig faecal samples. *Journal of applied microbiology* 99, 292-300.
- Jothikumar, N., da Silva, A.J., Moura, I., Qvarnstrom, Y., Hill, V.R., 2008. Detection and differentiation of *Cryptosporidium hominis* and *Cryptosporidium parvum* by dual TaqMan assays. *Journal of medical microbiology* 57, 1099-1105.
- Kaarme, J., Hickman, R.A., Neveus, T., Blomberg, J., Ohrmalm, C., 2016. Reassuringly low carriage of enteropathogens among healthy Swedish children in day care centres. *Public health* 140, 221-227.
- Kassenborg, H.D., Hedberg, C.W., Hoekstra, M., Evans, M.C., Chin, A.E., Marcus, R., Vugia, D.J., Smith, K., Ahuja, S.D., Slutsker, L., Griffin, P.M., 2004. Farm visits and undercooked hamburgers as major risk factors for sporadic *Escherichia coli* O157:H7 infection: data from a case-control study in 5 FoodNet sites. *Clinical Infectious Diseases* 38 Suppl 3, S271-278.
- Keramas, G., Bang, D.D., Lund, M., Madsen, M., Rasmussen, S.E., Bunkenborg, H., Telleman, P., Christensen, C.B., 2003. Development of a sensitive DNA microarray suitable for rapid detection of *Campylobacter* spp. *Molecular and cellular probes* 17, 187-196.
- Kovats, R.S., Edwards, S.J., Charron, D., Cowden, J., D'Souza, R.M., Ebi, K.L., Gauci, C., Gerner-Smidt, P., Hajat, S., Hales, S., Hernandez Pezzi, G., Kriz, B., Kutsar, K., McKeown, P., Mellou, K., Menne, B., O'Brien, S., van Pelt, W., Schmid, H., 2005. Climate variability and campylobacter infection: an international study. *International journal of biometeorology* 49, 207-214.

- Kuhnert, P., Dubosson, C.R., Roesch, M., Homfeld, E., Doherr, M.G., Blum, J.W., 2005. Prevalence and risk-factor analysis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in faecal samples of organically and conventionally farmed dairy cattle. *Veterinary Microbiology* 109, 37-45.
- Lee, K., Kusumoto, M., Iwata, T., Iyoda, S., Akiba, M., 2017. Nationwide investigation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* among cattle in Japan revealed the risk factors and potentially virulent subgroups. *Epidemiology & Infection* 145, 1557-1566.
- Lengerich, E.J., Addiss, D.G., Marx, J.J., Ungar, B.L., Juranek, D.D., 1993. Increased exposure to cryptosporidia among dairy farmers in Wisconsin. *The Journal of infectious diseases* 167, 1252-1255.
- Levesque, S., Fournier, E., Carrier, N., Frost, E., Arbeit, R.D., Michaud, S., 2013. Campylobacteriosis in urban versus rural areas: a case-case study integrated with molecular typing to validate risk factors and to attribute sources of infection. *PLoS ONE* 8, e83731.
- Madden, R.H., Murray, K.A., Gilmour, A., 2007. Carriage of four bacterial pathogens by beef cattle in Northern Ireland at time of slaughter. *Letters in Applied Microbiology* 44, 115-119.
- Matsuda, M., Moore, J.E., 2011. The epidemiology and zoonotic transmission of thermophilic *Campylobacter lari*. *British Microbiology Research Journal* 1, 104-121.
- McPherson, M., Lalor, K., Combs, B., Raupach, J., Stafford, R., Kirk, M.D., 2009. Serogroup-specific risk factors for Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection in Australia. *Clinical Infectious Diseases* 49, 249-256.
- Melo, L.C., Oresco, C., Leigue, L., Netto, H.M., Melville, P.A., Benites, N.R., Saras, E., Haenni, M., Lincopan, N., Madec, J.Y., 2018. Prevalence and molecular features of ESBL/pAmpC-producing Enterobacteriaceae in healthy and diseased companion animals in Brazil. *Veterinary Microbiology* 221, 59-66.
- Mevius, D., Heederik, D.J., Duijkeren, E., Veldman, K.T., van Essen, A., Kant, A., Liakopoulos, A. 2018. Rapport ESBL-Attributieanalyse (ESBLAT): Op zoek naar de bronnen van antibioticaresistentie bij de mens. (De stichting TKI Agri&Food), p. 73.
- Mughini-Gras, L., Enserink, R., Friesema, I., Heck, M., van Duynhoven, Y., van Pelt, W., 2014. Risk factors for human salmonellosis originating from pigs, cattle, broiler chickens and egg laying hens: a combined case-control and source attribution analysis. *PLoS ONE* 9, e87933.
- Mughini-Gras, L., van Pelt, W., van der Voort, M., Heck, M., Friesema, I., Franz, E., 2017. Attribution of human infections with Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) to livestock sources and identification of source-specific risk factors, The Netherlands (2010-2014). *Zoonoses and Public Health*.
- Mughini Gras, L., Smid, J.H., Wagenaar, J.A., de Boer, A.G., Havelaar, A.H., Friesema, I.H., French, N.P., Busani, L., van Pelt, W., 2012. Risk factors for campylobacteriosis of chicken, ruminant, and environmental origin: a combined case-control and source attribution analysis. *PLoS ONE* 7, e42599.

- Mylius, M., Dreesman, J., Pulz, M., Pallasch, G., Beyrer, K., Claussen, K., Allerberger, F., Fruth, A., Lang, C., Prager, R., Flieger, A., Schlager, S., Kalhofer, D., Mertens, E., 2018. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O103:H2 outbreak in Germany after school trip to Austria due to raw cow milk, 2017 - The important role of international collaboration for outbreak investigations. *International journal of medical microbiology : IJMM* 308, 539-544.
- Nielsen, L.R., 2013. Review of pathogenesis and diagnostic methods of immediate relevance for epidemiology and control of *Salmonella* Dublin in cattle. *Veterinary Microbiology* 162, 1-9.
- Oporto, B., Esteban, J.I., Aduriz, G., Juste, R.A., Hurtado, A., 2007. Prevalence and strain diversity of thermophilic campylobacters in cattle, sheep and swine farms. *Journal of applied microbiology* 103, 977-984.
- Opsteegh, M., Van Roon, A., Wit, B., Hagen-Lenselink, R., Van Duijkeren, E., Dierikx, C., Hengeveld, P.D., van Hoek, A.H., Franz, E., Bouw, E., Van der Meij, A., Van der Giessen, J. 2018. Surveillance zoonosen in de melkgeiten- en melkschapenhouderij in 2016 (Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu).
- Reist, M., Geser, N., Hachler, H., Scharrer, S., Stephan, R., 2013. ESBL-producing Enterobacteriaceae: occurrence, risk factors for fecal carriage and strain traits in the Swiss slaughter cattle population younger than 2 years sampled at abattoir level. *PLoS ONE* 8, e71725.
- Rhoades, J.R., Duffy, G., Koutsoumanis, K., 2009. Prevalence and concentration of verocytotoxigenic *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in the beef production chain: a review. *Food Microbiology* 26, 357-376.
- Rieux, A., Paraud, C., Pors, I., Chartier, C., 2014. Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates from beef calves under one month of age over three successive years in one herd in western France. *Veterinary parasitology* 202, 171-179.
- Roelfsema, J.H., Sprong, H., Caccio, S.M., Takumi, K., Kroes, M., van Pelt, W., Kortbeek, L.M., van der Giessen, J.W., 2016. Molecular characterization of human *Cryptosporidium* spp. isolates after an unusual increase in late summer 2012. *Parasites & vectors* 9, 138.
- Santman-Berends, I., Gonggrijp, M.A., Hage, J.J., Heuvelink, A.E., Velthuis, A., Lam, T., van Schaik, G., 2017. Prevalence and risk factors for extended-spectrum beta-lactamase or AmpC-producing *Escherichia coli* in organic dairy herds in the Netherlands. *Journal of dairy science* 100, 562-571.
- Sinton, L.W., Braithwaite, R.R., Hall, C.H., Mackenzie, M.L., 2007. Survival of Indicator and Pathogenic Bacteria in Bovine Feces on Pasture. *Applied and Environmental Biology* 73, 7917-7925.
- Stanley, K.N., Wallace, J.S., Currie, J.E., Diggle, P.J., Jones, K., 1998. The seasonal variation of thermophilic campylobacters in beef cattle, dairy cattle and calves. *Journal of applied microbiology* 85, 472-480.
- Uiterwijk, M., Keur, I., Friesema, I., Rozendaal, H., Holtslag, M., Van den Kerkhof, H., Kortbeek, L.M., Maassen, C.B. 2018. Staat van Zoonosen 2017, RIVM, R.v.V.e.M., ed. (Bilthoven, RIVM).

- Uiterwijk, M., Keur, I., Friesema, I., Valkenburgh, S., Holtslag, M., van Pelt, W., van den Kerkhof, H., van der Giessen, J., Kortbeek, T., Nijssen, R., Maassen, K. 2017. Staat van Zoonosen 2016, RIVM, R.v.V.e.M., ed. (Bilthoven, RIVM), p. 100.
- Urdahl, A.M., Beutin, L., Skjerve, E., Zimmermann, S., Wasteson, Y., 2003. Animal host associated differences in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from sheep and cattle on the same farm. *Journal of applied microbiology* 95, 92-101.
- Urdahl, A.M., Solheim, H.T., Vold, L., Hasseltvedt, V., Wasteson, Y., 2013. Shiga toxin-encoding genes (stx genes) in human faecal samples. *APMIS* 121, 202-210.
- Valcour, J.E., Michel, P., McEwen, S.A., Wilson, J.B., 2002. Associations between indicators of livestock farming intensity and incidence of human Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection. *Emerging infectious diseases* 8, 252-257.
- Van Buuren, S., Brand, J.P.L., Groothuis-Oudshoorn, C.G.M., Rubin, D.B., 2006. Fully conditional specification in multivariate imputation. *Journal of Statistical Computation and Simulation* 76, 1049-1064.
- van Hoek, A.H., Schouls, L., van Santen, M.G., Florijn, A., de Greeff, S.C., van Duijkeren, E., 2015. Molecular characteristics of extended-spectrum cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae from humans in the community. *PLoS ONE* 10, e0129085.
- Werber, D., Behnke, S.C., Fruth, A., Merle, R., Menzler, S., Glaser, S., Kreienbrock, L., Prager, R., Tschape, H., Roggentin, P., Bockemuhl, J., Ammon, A., 2007. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection in Germany: different risk factors for different age groups. *American journal of epidemiology* 165, 425-434.
- Wielinga, P.R., de Vries, A., van der Goot, T.H., Mank, T., Mars, M.H., Kortbeek, L.M., van der Giessen, J.W., 2008. Molecular epidemiology of *Cryptosporidium* in humans and cattle in The Netherlands. *International journal for parasitology* 38, 809-817.
- Wirth, T., Falush, D., Lan, R., Colles, F., Mensa, P., Wieler, L.H., Karch, H., Reeves, P.R., Maiden, M.C., Ochman, H., Achtman, M., 2006. Sex and virulence in *Escherichia coli*: an evolutionary perspective. *Molecular microbiology* 60, 1136-1151.
- Zomer, T.D.R., M.; Stenvers, O.; Valkenburgh, S.; Roest, H.J.; Friesema, I.; Maas, M.; van der Giessen, J.; van Pelt, W.; Maassen, K. 2014. Staat van Zoonosen 2013 (RIVM).

Bijlage 1 *Campylobacter*: resultaten univariante logistische regressie en selectie van variabelen voor multivariaat model

Variabele	Aantal	Prevalentie <i>Campylobacter</i>	p-waarde	OR
Gebruik van bedrijfslaarzen Nee Ja	71 1076	26,8% (19/71) 58,1% (625/1076)	0,001	Ref 6,87
Gebruik van bedrijfskleding Nee Ja	93 1054	31,2% (29/93) 58,3% (615/1054)	0,001	Ref 5,19
Beweidingsschema in gebruik als maatregel tegen worminfecties Nee Ja	1075 72	58% (624/1075) 27,8% (20/72)	0,001	Ref 0,16
Behandeling van aangevoerde dieren als maatregel tegen worminfecties Nee Ja	967 180	53,1% (513/967) 72,8% (131/180)	0,001	Ref 3,46
Gewogen frequentie beroepsgerelateerde bezoekers Numerieke variabele	-	-	0,003	1,07
Monster genomen op de weide Nee Ja	1080 67	57,5% (621/1080) 34,3% (23/67)	0,004	Ref 0,26
Geen hygiënemaatregelen voor overige bezoekers Nee Ja	383 764	65,3% (250/383) 51,6% (394/764)	0,005	Ref 0,43
Geen hygiënemaatregelen voor veehouder en personeel Nee Ja	1049 98	58,0% (608/1049) 36,7% (36/98)	0,008	Ref 0,27
Mest gebruikt voor bemesting van eigen weidegrond of akkers Nee Ja	52 1095	28,8% (15/52) 57,4% (629/1095)	0,009	Ref 5,46
Kwartaal van monsternamen Jan-Maart Apr-Juni Juli-Sept Okt-Dec	131 208 401 407	38,9% (51/131) 52,9% (110/208) 55,9% (224/401) 63,6% (259/407)	0,012	Ref 2,2 2,56 4,31
Ziekteverschijnsel plotseling dood in de afgelopen 6 maanden gezien op bedrijf Nee Ja	943 204	53,6% (505/943) 68,1% (139/204)	0,014	Ref 2,51

Variabele	Aantal	Prevalentie <i>Campylobacter</i>	p-waarde	OR
Gewogen frequentie van beroepsgerelateerde bezoekers			0,017	
<11	426	50,0% (213/426)		Ref
11-15	458	56,6% (259/458)		1,53
>15	257	66,9% (172/257)		2,88
Hygiënescore			0,018	
0	65	29,2% (19/65)		Ref
1-5	365	58,6% (214/365)		4,85
6-10	585	55,7% (326/585)		4,03
>10	132	64,4% (85/132)		7,22
Desinfectie van de bemonsterde stal			0,022	
Nee	1027	56,4% (579/1027)		Ref
Ja	53	79,2% (42/53)		4,13
Wordt mais gevoerd			0,022	
Nee	154	42,9% (66/154)		Ref
Ja	993	58,2% (578/993)		2,55
Worden nieuw aangevoerde dieren behandeld			0,023	
Nee	783	52,4% (410/783)		Ref
Ja	364	64,3% (234/364)		1,99
Ziekteverschijnsel vermagering in de afgelopen 6 maanden gezien op bedrijf			0,024	
Nee	1081	52,7% (621/1081)		Ref
Ja	66	34,8% (23/66)		0,26
Amfenicol-antibiotica gebruikt in het afgelopen jaar			0,028	
Nee	788	52,7% (415/788)		Ref
Ja	359	63,8% (229/359)		1,97
Varkens aanwezig op het bedrijf			0,031	
Nee	1099	57,2% (629/1099)		Ref
Ja	48	31,3% (15/48)		0,23
Worden nieuw aangevoerde dieren eerst apart gehuisvest			0,033	
Nee	623	52,0% (324/623)		Ref
Ja	396	62,9% (249/396)		1,79
Melkvee aanwezig op het bedrijf			0,042	
Nee	1051	54,6% (574/1051)		Ref
Ja	96	72,9% (70/96)		2,8
Aantal dagen quarantaine van nieuw aangevoerde dieren			0,045	
<50 dagen	222	62,2% (138/222)		Ref
>50 dagen	180	65,6% (118/180)		1,27
Geen quarantaine	611	51,9% (317/611)		0,57
Komt het strooisel van eigen bedrijf			0,045	
Ja	133	39,8% (53/133)		Ref
Deels	216	51,9% (112/216)		1,83
Nee	518	59,5% (308/518)		2,69
Geen gebruik van strooisel	268	62,3% (167/268)		3,45

Variabele	Aantal	Prevalentie <i>Campylobacter</i>	p-waarde	OR
Gecertificeerd voor QRund			0,046	
Nee	681	53,3% (364/681)		Ref
Ja	353	64,0% (226/353)		1,71
Aantal vleesvee in de bemonsterde stal			0,049	
Numerieke variabele	-	-		1
Hoeveel stuks vleesvee zijn in 2016 geleverd aan het slachthuis			0,049	
Numerieke variabele	-	-		1
Hoeveel verschillende soorten ruwvoer worden gevoerd			0,051	
1	60	33,3% (20/60)		Ref
2	311	57,9% (180/311)		3,34
3	317	52,7% (167/317)		2,5
4	213	54,0% (115/213)		2,81
5 of meer	246	65,9% (162/246)		5,57
Vleeschapen aanwezig op het bedrijf			0,052	
Nee	998	57,8% (557/998)		Ref
Ja	149	45,0% (67/149)		0,45
Varkensmest aangevoerd op het bedrijf			0,054	
Nee	279	64,9% (181/279)		Ref
Ja	153	46,4% (71/153)		0,36
Geen aanvoer mest	673	54,5% (367/673)		0,58
Geen hygiënemaatregelen voor beroepsgerelateerde bezoekers			0,059	
Nee	1058	57,4% (607/1058)		Ref
Ja	89	41,6% (37/89)		0,38
Biologisch (SKAL) gecertificeerd			0,062	
Nee	940	56,3% (529/940)		Ref
Ja	34	32,4% (11/34)		0,25
Wordt CornCobMix gevoerd			0,062	
Nee	1063	54,9% (584/1063)		Ref
Ja	84	71,4% (60/84)		2,73
Hoevaak wordt de stal gedesinfecteerd			0,076	
Halfjaarlijks	12	66,7% (8/12)		Ref
Jaarlijks	17	88,2% (15/17)		4,11
Bij leegstand	24	79,2% (19/24)		1,4
Nooit	1027	56,4% (579/1027)		0,46
Aantal verschillende leveranciers van vee in 2016			0,082	
Numerieke variabele	-	-		1,01
Wordt stro gevoerd			0,082	
Nee	881	53,8% (474/881)		Ref
Ja	266	63,9% (170/266)		1,79
Aantal aangevoerde dieren in 2016			0,086	
Numerieke variabele	-	-		1

Variabele	Aantal	Prevalentie <i>Campylobacter</i>	p-waarde	OR
Aantal aanwezig mannelijk vleesvee Numerieke variabele	-	-	0,089	1
Mesten van afgemolken melkvee Nee Ja	1082 65	57,1% (618/1082) 40,0% (26/65)	0,097	Ref 0,37
Bezoekers raken vleesvee niet aan Nee Ja	979 168	57,8% (566/979) 46,4% (78/168)	0,099	Ref 0,52
Andere runderen behalve vleesvee (melkvee, vleeskalveren, jongvee) aanwezig in de bemonsterde stal Nee Ja	1033 49	56,5% (584/1033) 75,5% (37/49)	0,102	Ref 2,62
Handen wassen voor betreden van de stal Nee Ja	760 387	58,9% (448/760) 50,6% (196/387)	0,102	Ref 0,61
Welke bodembedekking wordt gebruikt in de bemonsterde stal Geen bodembedekking Stro Zaagsel Rubbermat Anders of combinatie	342 598 18 39 64	61,1% (209/342) 57,5% (344/598) 27,8% (5/18) 56,4% (22/39) 51,6% (33/64)	0,105	Ref 0,81 0,17 0,46 0,49
Bezoekers komen niet in de stallen Nee Ja	967 180	57,8% (559/967) 47,2% (85/180)	0,109	Ref 0,54
Bemonsterde diercategorie 6 maanden-1 jaar 1 jaar tot slachtrijp Ouder vleesvee	55 959 22	76,4% (42/55) 58,0% (556/959) 40,9% (9/22)	0,115	Ref 0,53
Aantal verschillende beroepsgerelateerde bezoekers 1 2 3 4 5 6 7	72 229 361 234 155 72 18	58,3% (42/72) 47,2% (108/229) 52,6% (190/361) 57,3% (134/234) 66,5% (103/155) 73,6% (53/72) 77,8% (14/18)	0,115	Ref 0,49 0,65 0,86 1,56 1,7 3,45
Wordt bierbostel gevoerd Nee Ja	955 192	54,5% (520/955) 64,6% (124/192)	0,122	Ref 1,8

Variabele	Aantal	Prevalentie <i>Campylobacter</i>	p-waarde	OR
Hoeveel stallen met vleesvee zijn aanwezig op het bedrijf			0,127	
0	6	0% (0/6)		Ref
1	534	54,5% (291/534)		1,74
2	301	51,5% (155/301)		1,49
3	132	68,9% (91/132)		4,46
4	108	55,6% (60/108)		1,91
5 of meer	66	71,2% (47/66)		4,57
Ongediertebestrijding alleen dmv katten			0,127	
Nee	623	59,2% (369/623)		Ref
Ja	524	52,5% (275/524)		0,65
Overlast van ratten ervaren in het afgelopen jaar			0,134	
Nee	999	57,7% (576/999)		Ref
Ja	148	45,9% (68/148)		0,54
Ziekteverschijnsel koorts in de afgelopen 6 maanden gezien op bedrijf			0,137	
Nee	979	54,6% (535/979)		Ref
Ja	168	64,9% (109/168)		1,82
Stal reinigen met water			0,138	
Nee	777	55,2% (429/777)		Ref
Ja	303	63,4% (192/303)		1,45
Gecertificeerd voor Beter Leven Keurmerk			0,142	
Nee	797	54,2% (432/797)		Ref
Ja	195	63,6% (124/195)		1,66
Hygiënescore			0,142	
Numerieke variabele	-	-		1,07
Akkerbouw niet voor vee als neven/bedrijfstak			0,15	
Nee	795	58,2% (463/795)		Ref
Ja	352	51,4% (181/352)		0,64
Vleesvee aanwezig in de bemonsterde stal			0,152	
Nee	36	69,4% (25/36)		Ref
Ja	1044	57,1% (596/1044)		0,5
Aantal aanwezig mannelijk vleesvee			0,155	
0	54	55,6% (30/54)		Ref
<50	454	57,0% (259/454)		0,97
51-250	544	53,3% (290/544)		0,76
>250	89	73,0% (65/89)		2,62
Andere dierhouderij op het bedrijf			0,17	
Nee	810	58,0% (470/810)		Ref
Ja	337	51,6% (174/337)		0,65
Aminoglycosiden-antibiotica gebruikt in het afgelopen jaar			0,171	
Nee	1001	54,9% (550/1001)		Ref
Ja	146	64,4% (94/146)		1,78

Variabele	Aantal	Prevalentie <i>Campylobacter</i>	p-waarde	OR
Aantal maanden weidegang van vleesvee Numerieke variabele	-	-	0,173	Ref 0,95
Wordt persulp gevoerd			0,176	
Nee	1015	55,0% (558/1015)		Ref
Ja	132	65,2% (86/132)		1,81
Hoe vaak wordt de stal uitgeveegd			0,185	
Dagelijks	45	37,8% (17/45)		Ref
2-3x per week	20	85,0% (17/20)		2,63
Wekelijks	64	53,1% (34/64)		3,4
Maandelijks	108	60,2% (65/108)		3,03
1x per kwartaal	156	57,7% (90/156)		3,21
Halfjaarlijks	30	60,0% (18/30)		2,78
Jaarlijks	82	57,3% (47/82)		3,14
Bij leegstand	192	57,8% (111/192)		4,52
Niet	285	60,4% (172/285)		4,04

Variabelen gekozen als 1^e keuze set voor multivariate analyse

Variabelen gekozen als 2^e keuze set voor multivariate analyse

Variabelen niet gekozen voor multivariate analyse vanwege geen biologisch verklaarbare associatie met *Campylobacter* of omdat $p > 0,1$

Bijlage 2 ESBL-producerende *E. coli*: resultaten univariante logistische regressie en selectie van variabelen voor multivariaat model

Variabele	Aantal	Prevalentie ESBL-producerende <i>E. coli</i>	p-waarde	OR
Dekstieren aanwezig op het bedrijf			0,047	
Nee	735	2,6% (19/735)		Ref
Ja	419	10,7 (45/419)		4,45
Katten aanwezig in de bemonsterde stal			0,076	
Nee	905	4,5% (41/905)		Ref
Ja	188	10,6% (20/188)		4,03
Andere runderen behalve vleesvee (melkvee, vleeskalveren, jongvee) aanwezig in de bemonsterde stal			0,086	
Nee	1048	5,8% (61/1048)		Ref
Ja	47	2,1% (1/47)		0,013
Ligboxenstal			0,10	
Nee	1063	5,6% (60/1063)		Ref
Ja	30	3,3% (1/30)		0,12
Hebben vogels (anders dan pluimvee) toegang tot de bemonsterde stal			0,101	
Nee	1064	5,6% (60/1064)		Ref
Ja	29	3,4% (1/29)		0,12
Aantal dekstieren aanwezig op het bedrijf			0,103	
Numerieke variabele	-	-		1,37
Meest voorkomende vleesvee ras op het bedrijf			0,164	
Belgisch Witblauw	390	12,6% (49/390)		Ref
Blonde d'Aquitaine	401	2,7% (11/401)		0,26
Limousin	126	0,8% (1/126)		0,19
Ander ras	232	1,3% (3/232)		0,20
Akkerbouw voor veehouderij als overige bedrijfstak			0,199	
Nee	487	2,7% (13/487)		Ref
Ja	673	7,6% (51/673)		2,66

Bijlage 3 STEC: uitkomst resultaten logistische regressie en selectie van variabelen voor multivariaat model

Variabele	Aantal	Prevalentie STEC	p-waarde	OR
Ziekteverschijnsel oog/neusuitvloeiing in de afgelopen 6 maanden gezien op bedrijf			0,005	
Nee	180	26,7% (48/180)		Ref
Ja	13	0% (0/13)		0
Andere dieren wisselend met het vleesvee op de weide			0,008	
Nee	181	26,5% (48/181)		Ref
Ja	12	0% (0/12)		0
Beweidingschema in gebruik als maatregel tegen worminfecties			0,008	
Nee	181	26,5% (48/181)		Ref
Ja	12	0% (0/12)		0
Ziekteverschijnsel vermagering in de afgelopen 6 maanden gezien op bedrijf			0,011	
Nee	182	26,4% (48/182)		Ref
Ja	11	0% (0/11)		0
Aanwezigheid van vleeschapen op het bedrijf			0,021	
Nee	168	27,4% (46/168)		Ref
Ja	25	8,0 % (2/25)		0,23
Ziekteverschijnsel benauwdheid in de afgelopen 6 maanden gezien op bedrijf			0,036	
Nee	170	27,1% (46/170)		Ref
Ja	23	8,7% (2/23)		0,26
Tetracycline-antibiotica gebruikt in het afgelopen jaar			0,048	
Nee	145	28,3% (41/145)		Ref
Ja	48	14,6% (7/48)		0,43
Geen ziekteverschijnselen in de afgelopen 6 maanden gezien op bedrijf			0,05	
Nee	108	19,4% (21/108)		Ref
Ja	85	31,8% (27/85)		1,93
Hobby kippen toegang tot de bemonsterde stal			0,062	
Nee	177	26% (46/177)		Ref
Ja	6	0% (0/6)		0
Vleeschapen afwisselend op de weide met vleesvee			0,062	
Nee	187	25,7% (48/187)		Ref
Ja	6	0% (0/6)		0

Variabele	Aantal	Prevalentie STEC	p-waarde	OR
Ziekteverschijnsel overmatig hoesten in de afgelopen 6 maanden gezien op bedrijf			0,076	
Nee	157	27,4% (43/157)		Ref
Ja	36	13,9% (5/36)		0,43
Tuinbouw als neven/bedrijfstak			0,078	
Nee	183	23,5% (43/183)		Ref
Ja	10	50% (5/10)		3,26
Andere afvoer van mest dan voor bemesting eigen of niet-eigen grond			0,088	
Nee	188	25,5% (48/188)		Ref
Ja	5	0% (0/5)		0
Gecertificeerd voor IKB Rund			0,098	
Nee	26	38,5% (10/26)		Ref
Ja	160	23,1% (37/160)		0,49
Aantal vleesvee in de bemonsterde stal			0,11	
Numerieke variabele	-	-		1,01
Over hoeveel hokken is het vleesvee verdeeld in de bemonsterde stal			0,115	
1-5 hokken	32	9,4% (3/32)		Ref
6-10 hokken	51	25,5% (13/51)		2,02
11-20 hokken	44	36,4% (16/44)		3,17
>20 hokken	19	26,3% (5/19)		2,16
Heeft de bemonsterde stal een uitloop			0,118	
Nee	156	25% (39/156)		Ref
Ja	8	50% (4/8)		2,91
Type drinkwater in de stal(len)			0,128	
Alleen kraanwater	114	25,4% (29/114)		Ref
Alleen grondwater	71	26,8% (19/71)		1,06
Combinatie of anders	6	0% (0/6)		0
Wordt persulp gevoerd			0,138	
Nee	170	26,5% (45/170)		Ref
Ja	23	13,0% (3/23)		0,42
Ontwormmiddelen in gebruik			0,143	
Nee	94	20,2% (19/94)		Ref
Ja	99	29,3% (29/99)		1,64
Worden aardappelproducten gevoerd			0,166	
Nee	138	27,5% (38/138)		Ref
Ja	55	18,2% (10/55)		0,58
Wordt muizenbestrijding toegepast			0,167	
Nee	80	30,0% (24/80)		Ref
Ja	113	21,2% (24/113)		0,63

Variabele	Aantal	Prevalentie STEC	p-waarde	OR
Klein gereedschap gedeeld met andere bedrijfstukken			0,17	
Nee	171	26,3% (45/171)		Ref
Ja	22	13,6% (3/22)		0,44
Amfenicol-antibiotica gebruikt in het afgelopen jaar			0,176	
Nee	134	27,6% (37/134)		Ref
Ja	59	18,6% (11/59)		0,6
Biologisch (SKAL) gecertificeerd			0,178	
Nee	157	26,1% (41/157)		Ref
Ja	6	50% (3/6)		3,06
Vleeskalveren aanwezig op het bedrijf			0,178	
Nee	187	24,1% (45/187)		Ref
Ja	6	50,0% (3/6)		3,16
Afvoer van mest voor bemesting van niet-eigen grond			0,181	
Nee	128	21,9% (28/128)		Ref
Ja	65	30,8% (20/65)		1,59
Hoeveel stuks vleesvee zijn in 2016 naar het slachthuis gebracht			0,185	
<50	82	25,6% (21/82)		Ref
51-200	80	28,7% (23/80)		1,17
>200	31	12,9% (4/31)		0,43
Vrouwelijk vleesvee/af te mesten zoogkoeien op de weide			0,186	
Nee	161	23,0% (37/161)		Ref
Ja	32	34,4% (11/32)		1,76
Zogende kalveren aanwezig in de bemonsterde stal			0,19	
Nee	174	24,1% (42/174)		Ref
Ja	9	44,4% (4/9)		2,54
Betalactam-antibiotica gebruikt in het afgelopen jaar			0,193	
Nee	116	21,6% (25/116)		Ref
Ja	77	29,9% (23/77)		1,55

Variabelen gekozen als 1^e keuze set voor multivariate analyse
 Variabelen gekozen als 2^e keuze set voor multivariate analyse
 Variabelen niet gekozen voor multivariate analyse vanwege geen biologisch verklaarbare associatie met STEC.

RIVM

De zorg voor morgen begint vandaag