RIJKSINSTITUUT VOOR VOLKSGEZONDHEID EN MILIEU
BILTHOVEN

Rapport nr. 284550001

De kans op infectie en ziekte na het eten van schelpdieren, besmet met *Campylobacter lari* — een oriënterende studie

P.F.M. Teunis, A.H. Havelaar[1]
J.S. Vliegenthart en G.L. Roessink[2]

maart 1996

Dit onderzoek werd verricht in opdracht van het Ministerie van Volksgezondheid, Welzijn en Sport, Directoraat Generaal Volksgezondheid, Inspectie Gezondheidsbescherming (project nummer 284550).

1. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, Anthonie van Leeuwenhoeklaan 9, Postbus 1, 3720 BA Bilthoven, Tel. 030-2743927, Fax. 030-2744434
2. Inspectie Gezondheidsbescherming, Keuringsdienst van Waren, Evertsenstraat 17, 4461 XN Goes, Tel. 01100-14910, Fax. 01100-30436

Verzendlijst

1		Ministerie van VWS, Directoraat Generaal Volksgezondheid, Inspectie Gezondheidsbescherming
2		Ministerie van VWS, Directoraat Generaal Volksgezondheid, Veterinaire Hoofdinspectie
3		H.P. Endtz, Erasmus Universiteit Rotterdam
4		F. van Knapen, Universiteit Utrecht
5		F.M. Rombouts, Landbouw Universiteit Wageningen
6		J.H.J. Huis in 't Veld, Universiteit Utrecht
7		M.H. Zwietering, Landbouw Universiteit Wageningen
8	– 9	Depot Nederlandse publicaties en Nederlandse bibliografie
10		Directie Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiëne
11		Directeur Sector 2
12		M.J.W. Sprenger
13		J. Seidell
14		J.G. Loeber
15		F.M. van Leusden
16		T.G. Kimman
17		J. Meulenbelt
18	– 27	Leden projectgroep Gastro-Enteritis
28		H. van Loveren
29		P.A. Steerenberg
30		J. Garssen
31		J.J.H.Theunissen
32		J.F. Schijven
33		C.H. Ratsak
34		Hoofd Bureau Voorlichting en Public Relations
35		Bureau rapportenregistratie
36	– 37	Bibliotheek RIVM
38	– 41	Auteurs
42	– 62	Reserve exemplaren t.b.v. Bureau Rapportenbeheer

Inhoudsopgave

Verzendlijst iii

Inhoudsopgave v

Summary vi

Samenvatting viii

1 Inleiding 1

2 Schatting van de dosis 3
- 2.1 Wijze van berekening 3
- 2.2 Concentratie *Campylobacter* in schelpdiervlees 3
- 2.3 Effect van transport, opslag en bereiding op de concentratie *Campylobacter* in schelpdiervlees 4
- 2.4 Gewicht van een portie ongekookte schelpdieren 7
- 2.5 Geschatte dosis *Campylobacter lari* bij consumptie van een portie rauwe schelpdieren 7

3 Dosis-respons relatie 12
- 3.1 De pathogeniciteit van *Campylobacter lari* 12
- 3.2 De dosis-responsrelatie voor *Campylobacter jejuni* 13

4 Schatting van de kans op infectie 16

5 Schatting van de kans op ziekte 21

6 Conclusies en Discussie 23
- 6.1 Aannames 24
- 6.2 Onzekerheidsanalyse 24
- 6.3 Verder onderzoek 25

Literatuuropgave 27

Summary

Part of the mussels and oysters traded in the Netherlands have been shown to be contaminated with *Campylobacter*. This has raised the question of how significant this finding may be for public health. Aside from epidemiological investigations into the relation between the consumption of shellfish and the incidence of *Campylobacter*-related gastroenteritis, evaluation by means of quantitative risk assessment may provide an indication of the seriousness of this contamination.

A predominant fraction of the isolated strains appears to be *Campylobacter lari*, presumably from faecal contamination by seagulls. Since no dose-response data are available for *Campylobacter lari* in humans, data for *Campylobacter jejuni* have been used instead. It is assumed that *Campylobacter jejuni* is at least as infectious as *Campylobacter lari*. In addition to this, we assume that any strain of *C. lari* is equal in infectivity to the examined strain *C. jejuni* A3249.

The numbers of *Campylobacter* in a portion of shellfish, are also not well known. Using those data that are available a probability distribution, for the probability of finding a certain number of organisms in a portion of shellfish, has been found.

This provides the information that is necessary to estimate the probability of infection, with an appropriate confidence interval. Our calculations show that, under the assumptions we have made (concerning infectivity, consumed amount, distribution of organisms in shellfish meat), the probability of infection after consuming a portion of oysters is 2 – 10%, for raw mussels this is 5 – 20% , with an upper limit near 60% , during the period of maximum contamination. The mean risk of gastroenteric symptoms may amount to about 20% of the risk of infection: 0.4 – 2% for oysters, 1 – 4% for raw mussels.

The health risk with repeated shellfish consumption has been assessed by using two scenarios. Consumption of a portion of oysters once every month during a complete season produces a mean probability of infection near 50% (confidence range 6 – 99%), for raw mussels this is 60% (confidence range 7 – 99%). Weekly consumption of a portion of raw shellfish increases this estimated risk to almost 100% . Persons with such a consumption pattern are likely to develop protective immunity, so that the latter probability probably constitutes an overestimate.

It is not possible to extend the risk estimates to population levels, because the consumption of raw shellfish among the general population is not known. However, the magnitude of the calculated risks seems to be sufficient for verification in a volunteer study. The feasibility of such a setup is illustrated in an example.

Cooking of mussels according to standard recipe causes the internal temperature within the meat to rise to about 90 °C, more than high enough to kill any campylobacters present in these mussels. In industrial cooking procedures even higher temperatures are reached, so that the health risks caused by *C. lari* in commercially preserved mussel products may be neglected. Hence, before consumption, cooking of mussels is recommended

Factors that need more research, are: accurate enumeration of *Campylobacter lari* in shellfish, the influence of heating on the viability of *C. lari*, the number of mussels

or oysters consumed in a single portion. In addition to this, more information on the dose response for infection and disease by *C. lari* is needed, as well as more reliable data on the infectivity of *C. jejuni* at low doses, and data on the variations in sensitivity to infection/disease between humans, and variations in infectivity between different *Campylobacter*-strains.

Samenvatting

Nadat geconstateerd was dat in een deel van de in Nederland verhandelde verse mosselen en oesters *Campylobacter* aangetoond kon worden, is de vraag gerezen wat dit zou kunnen betekenen voor de volksgezondheid. Naast epidemiologisch onderzoek naar de relatie tussen de consumptie van schelpdieren en de incidentie van door *Campylobacter* veroorzaakte gastroenteritis kan een evaluatie met behulp van kwantitatieve risico-analyse een indruk geven van de ernst van een dergelijke besmetting.

Een groot deel van de gevonden stammen blijkt *Campylobacter lari* te zijn, vermoedelijk uit faecaliën van meeuwen in het water terecht gekomen. Aangezien dosis-respons gegevens voor *Campylobacter lari* in de mens niet voorhanden zijn, is gebruik gemaakt van gegevens voor *Campylobacter jejuni*, een bekend darmpathogeen. Hierbij is aangenomen dat *Campylobacter jejuni* minstens zo infectieus is als *Campylobacter lari*, en dat alle stammen van *C. lari* even infectieus zijn als de experimenteel onderzochte stam (*C. jejuni* A3249).

De hoeveelheid *Campylobacter* in een geconsumeerde hoeveelheid schelpdieren, de dosis, is evenmin goed bekend. Met de beperkte gegevens die momenteel beschikbaar zijn is een kansverdeling gevonden, die de kans op een bepaald aantal *Campylobacter lari* in een portie schelpdieren zo goed mogelijk beschrijft.

Met deze beide gegevens kan de kans op infectie geschat worden, met een betrouwbaarheidsinterval, dat aangeeft binnen welke uiterste grenzen deze kans waarschijnlijk ligt. Onze berekening wijst uit dat onder de gemaakte aannames (omtrent infectiviteit, grootte van een geconsumeerde portie, verdeling van organismen in schelpdiervlees) de kans op infectie na het consumeren van een portie ongekookte oesters 2 – 10% is, voor mosselen 5 – 20% is, met bovengrens van een 95% betrouwbaarheidsinterval nabij 60% voor beide, in de periode met maximale besmetting. Het gemiddelde risico op symptomen van gastro-enteritis zou ongeveer 20% van het infectierisico kunnen bedragen: 0.4 – 2% voor oesters, 1 – 4% voor rauwe mosselen.

Het risico bij regelmatige consumptie van schelpdieren is geschat aan de hand van twee scenario's. Éénmaal per maand een portie oesters gedurende een compleet seizoen leidt tot een gemiddeld infectierisico van 50% (betrouwbaarheidsinterval 6 – 99%), voor rauwe mosselen is dit 60% (7 – 99%). Bij wekelijkse consumptie van een portie rauwe schelpdieren stijgt dit geschatte infectierisico tot nabij 100 % . Het is waarschijnlijk dat personen met een dergelijk consumptiepatroon beschermende immuniteit ontwikkelen, zodat deze laatste kans overschat is.

De geschatte risico's kunnen niet vertaald worden naar populatieniveau's, omdat er geen gegevens over de consumptie van rauwe schelpdieren onder de bevolking voorhanden zijn. Wel kan aannemelijk worden gemaakt dat de hoogte van de geschatte risico's voldoende is voor verificatie door middel van een experiment met vrijwilligers.

Koken van mosselen op de op de verpakking aangegeven wijze levert in het vlees temperaturen op rond 90°C, ruim voldoende om alle aanwezige campylobacters te

doden. Bij industrieel koken worden nog hogere temperaturen bereikt, zodat de gezondheidsrisico's van mosselconserven ten gevolge van *C. lari* verwaarloosbaar gesteld mogen worden. Het is dan ook aanbevelenswaardig om mosselen te koken alvorens deze te consumeren.
Om een meer betrouwbare risico-analyse uit te kunnen voeren is informatie nodig over: het aantal *Campylobacter lari* in mosselen en oesters, de invloed van verhitten op de overleving van *C. lari*, de hoeveelheid per keer geconsumeerde mosselen/oesters. Verder is er grote behoefte aan dosis-responsgegevens voor infectie en ziekte veroorzaakt door *C. lari* in de mens en/of meer betrouwbare gegevens over het infectierisico van *C. jejuni* bij lage doses en de variaties in gevoeligheid voor infectie / ziekte tussen mensen, evenals mogelijke variaties in infectiviteit tussen verschillende *Campylobacter* – stammen.

Hoofdstuk 1

Inleiding

Uit onderzoek van de Inspectie Gezondheidsbescherming, Keuringsdienst van Waren te Goes naar de bacteriologische kwaliteit van verse schelpdieren (mosselen en oesters) is gebleken dat een niet onaanzienlijk deel van deze schelpdieren besmet is met *Campylobacter* (in 1993 69 % van de mosselen en 27 % van de oesters) (Vliegenthart, 1994). De vraag is in hoeverre deze besmetting een gevaar vertegenwoordigt voor de volksgezondheid. In feite gaat het daarbij om twee vragen, in de eerste plaats: wordt een consument van deze met *Campylobacter* besmette schelpdieren ziek, en hoe groot is de kans daarop? In de tweede plaats: hoeveel mensen kunnen in Nederland per jaar (seizoen, etc.) ziek worden door consumptie van met *Campylobacter* besmette schelpdieren?

De betekenis van deze besmetting van voor consumptie bestemde schelpdieren kan op twee manieren worden geëvalueerd: door middel van epidemiologisch onderzoek, of met behulp van kwantitatieve risico-analyse (Teunis *et al.*, 1994). Deze twee methodes zijn geschikt voor verschillende doeleinden en kunnen elkaar wellicht aanvullen.

Met epidemiologische middelen kan men proberen de betekenis te achterhalen van *Campylobacter lari* als verwekker van gastroenteritis in het algemeen, en of consumptie van besmette schelpdieren een belangrijke risico-factor is. Hiervoor moet worden aangetoond dat dit organisme voorkomt als verwekker van gastroenteritis bij de mens, door analyse van faecesmonsters. Vervolgens moet worden onderzocht, of deze patienten de infectie via het eten van besmette schelpdieren hebben opgelopen, of via andere routes. Dit kan gebeuren door middel van een patiënt-controle onderzoek. De haalbaarheid van dit onderzoek hangt sterk af van de kans om voldoende patienten te vinden (Borgdorff, 1995). Een dergelijk onderzoek vereist een aanzienlijke investering aan arbeidskracht en hulpmiddelen.

Met behulp van kwantitatieve risicoschatting kan een eerste indruk worden verkregen van de mogelijke omvang van het probleem. Voor een dergelijke risicoschatting is een aantal gegevens nodig. De dosis-responsrelatie, die verband legt tussen de *intensiteit* van de blootstelling en de *frekwentie* van het optreden van een gezondheidseffect, moet bekend zijn voor het betreffende pathogene micro-organisme

in de mens. Verder moet het mogelijk zijn een enigszins betrouwbare schatting te maken van de hoeveelheid pathogene micro-organismen (*Campylobacter* in dit geval) die een persoon binnenkrijgt. Met deze gegevens kan een schatting worden gemaakt van de kans dat een willekeurig individu geïnfecteerd wordt na het eten van schelpdieren. Als bovendien iets bekend is over de hoeveelheid geconsumeerde mosselen en oesters per persoon per dag (of jaar) van de Nederlandse bevolking, of een subpopulatie daarvan, dan kan in principe tevens het verwachte aantal personen per dag (of jaar) worden berekend dat infectie met *Campylobacter* oploopt via het eten van schelpdieren. Deze informatie kan worden beschouwd als een eerste indicatie voor de gevolgen van de geconstateerde besmetting. Bovendien is een dergelijke schatting van de incidentie wellicht nuttige informatie bij het opzetten van een epidemiologisch onderzoek.
In dit oriënterende rapport worden de beschikbare gegevens voor het maken van een kwantitatieve risicoschatting verkend en wordt een voorlopige berekening gemaakt. Ook worden nadere aandachtspunten beschreven.

Hoofdstuk 2

Schatting van de dosis

2.1 Wijze van berekening

De dosis *Campylobacter* waaraan een individu via consumptie van schelpdieren wordt blootgesteld kan worden geschat uit:

$$D = C \times 10^{-DR} \times W$$

Waarin:

D aantal campylobacters in een portie te consumeren mosselen / oesters

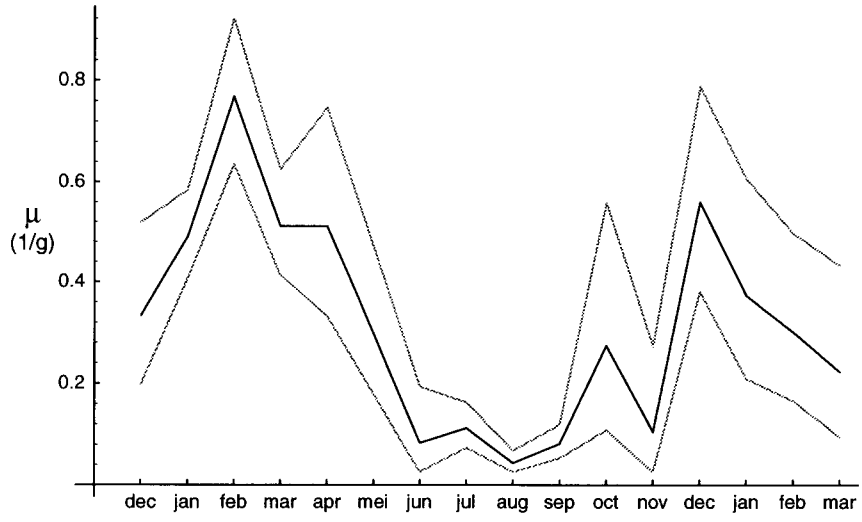
C concentratie *Campylobacter* per gram schelpdiervlees, eventueel gesplitst naar species (*C. lari*, *C. jejuni*, *C. coli*)

DR decimale reductie door transport, opslag en bereiding (koken, pH-daling)

W gewicht van een portie schelpdieren

2.2 Concentratie *Campylobacter* in schelpdiervlees

Door de Keuringsdienst van Waren in Goes is gedurende de jaren 1993, 1994 en 1995 onderzoek uitgevoerd naar het voorkomen van *Campylobacter* spp. in mosselen en oesters. De monsters werden hoofdzakelijk genomen direct na het verpakken bij verschillende mosselbedrijven te Yerseke. Enkele monsters werden uit de detailhandel betrokken. Voor een gedetailleerde beschrijving van de onderzoeksmethode wordt verwezen naar Vliegenthart (1994). In het kort werd de aanwezigheid van *Campylobacter* spp. onderzocht in vijf maal 1 gram gehomogeniseerd schelpdiervlees (inclusief intravalvaire vloeistof) door middel van ophoping bij 42 °C in CCDB-bouillon, gevolgd door isolatie op een CCDB-agarplaat, eveneens bij 42 °C. Aanwezige, voor *Campylobacter* karakteristieke kolonies werden microscopisch en biochemisch bevestigd. Tevens werd getracht met behulp van biochemische methoden de geïsoleerde *Campylobacter* spp. te identificeren op speciesniveau. Hierbij bleek dat ongeveer de helft van de stammen waarschijnlijk tot *C.*

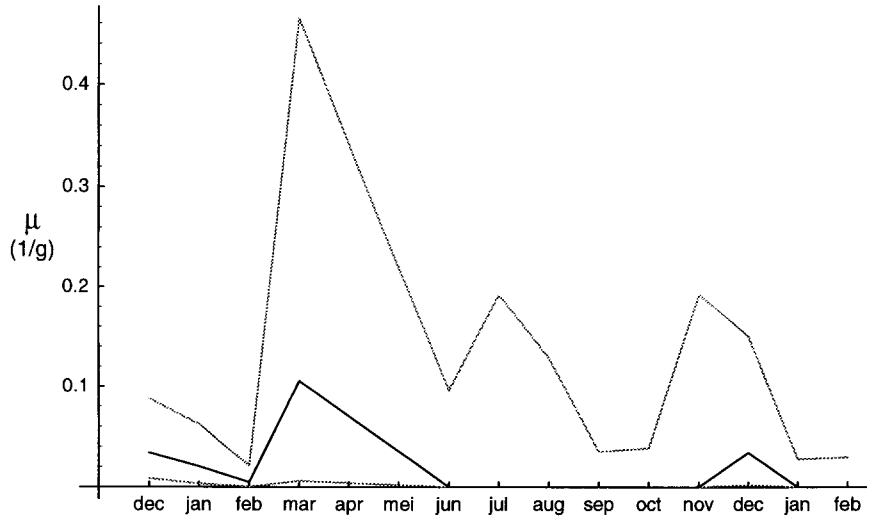


Afbeelding 2.1: Verloop van de concentratie *Campylobacter lari* (μ) in mosselen (gemiddeld aantal organismen per gram vers mosselvlees) over verscheidene maanden (dec 1993 - maart 1995). Gegeven zijn de beste schatting voor Poisson verdeelde organismen, en een (95%) betrouwbaarheidsinterval.

lari behoorde; de overige stammen konden niet eenduidig worden geïdentificeerd (Vliegenthart, 1994). Nader onderzoek van 39 (in de eerste maanden van het onderzoek aselect gekozen) isolaten met behulp van polyacrylamide-gel electroforese (PAGE) van celeiwitten en DNA-fingerprinting toonde aan dat 38/39 isolaten tot *C. lari* behoorden en één isolaat tot *C. coli* (Endtz *et al.*, 1995). Fenotypisch waren de isolaten sterk variabel.
De concentratie *Campylobacter* in schelpdiervlees werd als volgt geschat. De analysemethode komt overeen met een MPN-schema met slechts één verdunning. Mogelijke uitkomsten zijn 0/5,1/5, 2/5, 3/5, 4/5 of 5/5 positieve buizen. Onder de aanname dat de organismen Poisson verdeeld zijn, kan een schatting gemaakt worden van de meest waarschijnlijke concentratie (= de Poisson parameter μ) per maand. In figuur 2.2 en 2.1 is het verloop van deze meest waarschijnlijke concentratie uitgezet, evenals een 95% betrouwbaarheidsinterval voor deze waarde.

2.3 Effect van transport, opslag en bereiding op de concentratie *Campylobacter* in schelpdiervlees

De mate van overleving van *Campylobacter* tijdens transport, opslag en bereiding van schelpdieren is een factor die een aanzienlijke onzekerheid in de risicoschatting veroorzaakt. Enerzijds omdat er vrijwel geen gegevens beschikbaar zijn, en anderzijds omdat verwacht mag worden dat de condities waaraan de schelpdieren blootgesteld worden zeer variabel zullen zijn.
Bij transport en opslag worden de schelpdieren in principe koel bewaard, hoewel



Afbeelding 2.2: Verloop van de concentratie *Campylobacter lari* (μ) in oesters (gemiddeld aantal organismen per gram vers oestervlees) over verscheidene maanden (dec 1993 – maart 1995). Gegeven zijn de beste schatting voor Poisson verdeelde organismen, en een (95%) betrouwbaarheidsinterval.

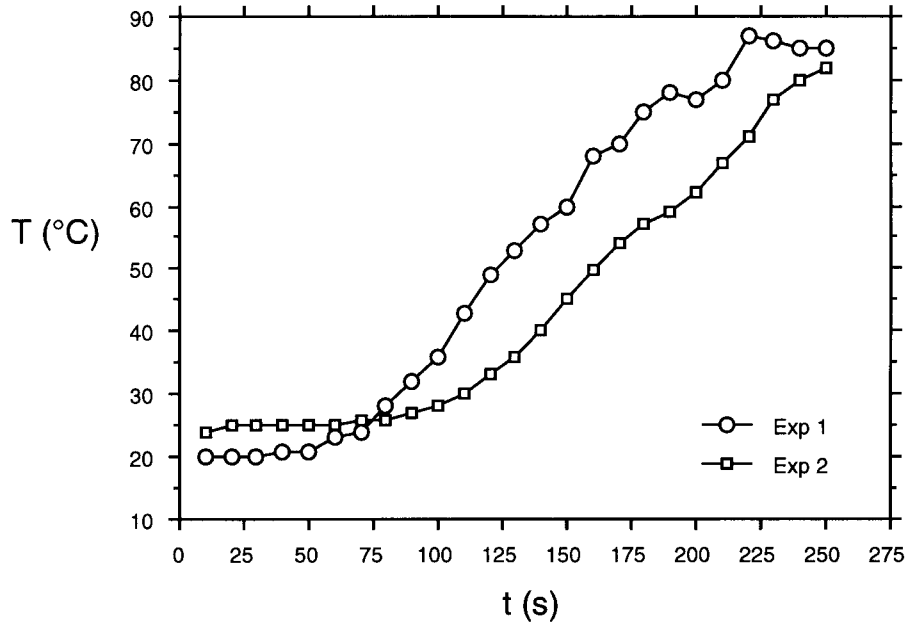
korte perioden bij omgevingstemperatuur regelmatig voorkomen. Gezien het thermofiele karakter van *Campylobacter* is vermeerdering tijdens transport en opslag vrijwel uitgesloten, voor een worst-case schatting wordt ervan uitgegaan dat evenmin afsterving optreedt. Moore *et al.* (1995) rapporteerden de isolatie van *Campylobacter* uit een monster mosselen dat uit de detailhandel was betrokken.

Het effect van verhitting van schelpdieren (bij voorbeeld bij het opkoken van mosselen) wordt bepaald door de temperatuur die in de kern van het schelpdiervlees wordt bereikt. Bij industriële bereiding worden temperaturen van 120 - 136 °C gerealiseerd (Bon en Keizer, 1995). Over het temperatuurverloop bij het opkoken van mosselen zijn slechts weinig, deels tegenstrijdige literatuurgegevens aangetroffen.

Naar aanleiding van een epidemie van infecieuze hepatitis die werd verspreid via gestoomde Venusschelpen (*Mya arenaria*, "clams") voerden Koff en Sear (1967) een aantal experimenten uit waarbij de schelpdieren werden opgehangen in stoom. Na gemiddeld 50 seconden openden de schelpen zich bij een temperatuur onder 70°C; binnen 3 minuten werd een interne temperatuur van ca. 90°C bereikt. Omdat deze schelpdieren vaak gegeten worden onmiddellijk na het openen van de schelp werd geconstateerd dat transmissie van het hepatitis-A virus via deze route inderdaad mogelijk is.

Door Millard *et al.* (1987) werden gelijksoortige experimenten uitgevoerd met kokkels, kunstmatig besmet met poliovirus en hepatitis-A virus. In deze experimenten bleek wederom dat de schelpen zich in hete stoom zeer snel (na ca. 30 seconden) openen en dat binnen 2 minuten een interne temperatuur van 90 °C wordt bereikt. Op dat moment kon ook geen infectieus hepatitis-A virus worden aangetoond.

Om na te gaan hoe het temperatuurverloop bij het koken van mosselen is, werd op



Afbeelding 2.3: Temperatuurverloop binnen de schelp van een mossel tijdens een standaard kookproces (bij t=0 wordt de pan op het vuur gezet). Het experiment is twee maal uitgevoerd, onder vergelijkbare omstandigheden.

de Keuringsdienst van Waren te Goes een aantal experimenten uitgevoerd. In één mossel werd, via een gaatje van 3 mm een gecalibreerde insteekthermometer in de kern van het vlees gebracht. Deze mossel werd op een laag van een kilo mosselen in een pan met een bodempje water gelegd. Op een gasfornuis werden de mosselen in de met een deksel afgesloten pan aan de kook gebracht op hoog vuur. Nadat het kookvocht / schuim was gestegen tot het deksel, werd het deksel opgelicht; dit werd nog tweemaal herhaald. Vervolgens werd het gas uitgedraaid en het deksel van de pan gehaald. Gedurende het kookproces werd elke 10 seconden de thermometer afgelezen. Aan het einde van het kookproces werd bij een aantal mosselen de temperatuur in het vlees gemeten, waarbij bleek dat deze overeenkwam met die in de doorboorde mossel. De doorboorde mossel opende zich, als de andere mosselen, gedurende het kookproces. De resultaten van twee experimenten staan weergegeven in figuur 2.3. Binnen enkele minuten blijkt de temperatuur in de mosselen sterk op te lopen, aan het einde van het kookproces wordt een temperatuur van 80-90 °C bereikt.

Over de afsterving van *Campylobacter* als functie van de temperatuur zijn weinig gegevens bekend. Door Bandres *et al.* (1988) is beschreven dat bij het aan de kook brengen van een glas water de concentratie kweekbare *Campylobacter* snel afneemt wanneer een temperatuur boven 60-65 °C wordt bereikt. Gezien bovenstaande gegevens kan gesteld worden dat zowel bij het huishoudelijk bereiden als bij het industrieel bereiden van mosselen dusdanige temperaturen bereikt worden dat via de-

ze weg de blootstelling van de consument aan infectieuze *Campylobacter* – bacteriën verwaarloosbaar zal zijn.
Besprenkelen met citroenzuur (pH verlaging) zal naar verwachting enkel effect hebben aan de buitenzijde van het schelpdiervlees, en nauwelijks hierin doordringen. Dientengevolge gaan we uit van de veronderstelling dat deze behandeling geen invloed heeft op het aantal levende campylobacters in besmet schelpdiervlees (oesters, in dit geval).

2.4 Gewicht van een portie ongekookte schelpdieren

Gezien het bovenstaande zal een kwantitatieve risicoschatting uitsluitend worden uitgevoerd voor de consumptie van onverhitte schelpdieren.
Dit is de gebruikelijke wijze van consumptie van oesters, waarbij een portie meestal bestaat uit een half, soms een heel dozijn. Het vleesgewicht van een oester varieert tussen 10 en 15 g voor platte Zeeuwse oesters en 25 - 30 gram voor "Creuses". Uitgaande van deze laatste categorie, als "worst case", kan het gewicht van een geconsumeerde portie liggen tussen 150 en 350 gram (figuur 2.4).
De consumptie van ongekookte mosselen is minder gebruikelijk, maar komt in Zeeland en in het buitenland wel voor, bij voorbeeld als voorafje bij een maaltijd gekookte mosselen. Er worden dan meestal ook een half tot een heel dozijn mosselen gegeten. Voor klasse A mosselen wordt 60-70 stuks per kg aangegeven. Het netto vleesgewicht per kiloverpakking varieert: 260 g in juli en augustus; 250 g in september en october; 240 g in november en december; 230 g in januari, februari en maart; de maanden april, mei en juni vallen buiten het mosselseizoen. Hier is een lognormaal verdeeld gewicht aangenomen, met de opgegeven waarden als ondergrens, en een bovengrens die ongeveer 40 g hoger ligt. Over een geheel jaar levert dit dus 4 verschillende verdelingen op (figuur 2.5.
Het per mosselmaaltijd geconsumeerde aantal grammen mosselvlees kan worden berekend als:

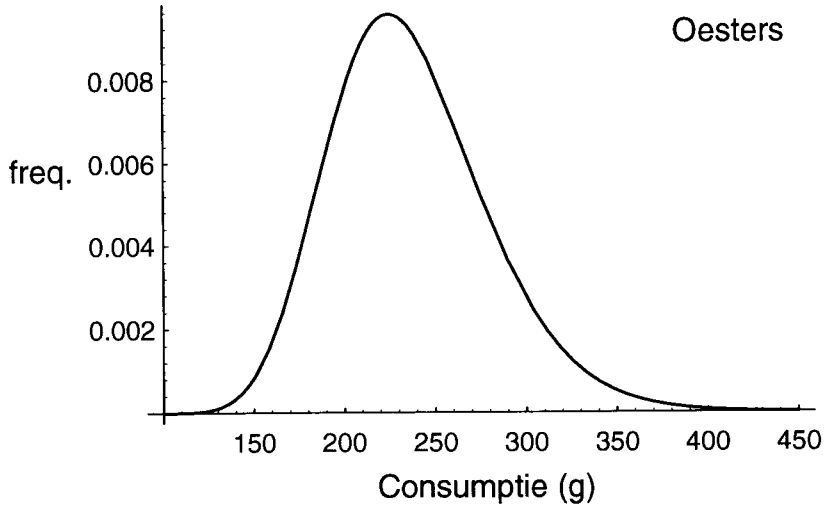
$$\frac{\text{netto gewicht per kg}}{\text{aantal per kg}} \times \text{aantal per maaltijd}$$

De uit de diverse aannames resulterende verdeling is weergegeven in figuur 2.5. Duidelijk blijkt de geringe invloed van de variatie in versgewicht over het seizoen.

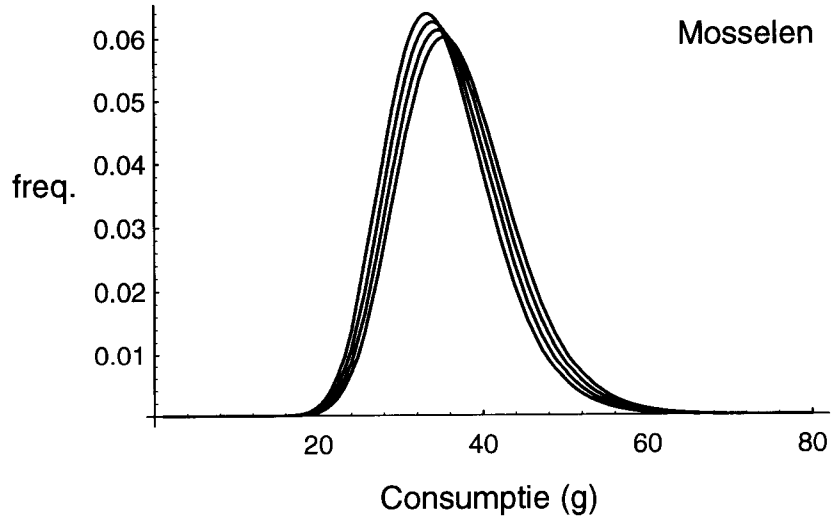
2.5 Geschatte dosis *Campylobacter lari* bij consumptie van een portie rauwe schelpdieren

Voor de berekening van de dosis aan *Campylobacter* per maaltijd zijn we uitgegaan van de volgende veronderstellingen:

- de organismen zijn Poisson verdeeld in schelpdiervlees, met een maandelijks variërende gemiddelde concentratie



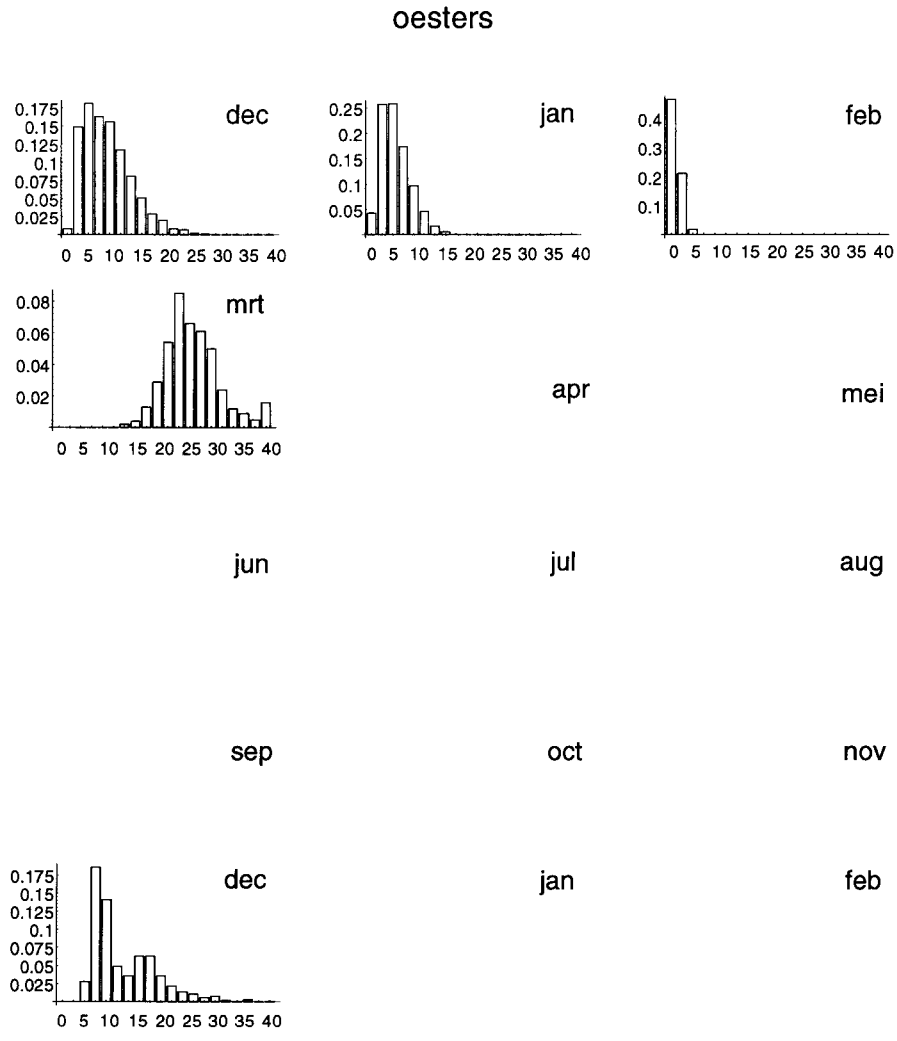
Afbeelding 2.4: Schatting van de per portie geconsumeerde hoeveelheid oestervlees ("Creuses"). Bij beide factoren: netto vleesgewicht per oester en aantal rauwe oesters dat per keer gegeten wordt, is een lognormale verdeling aangenomen, dit leidt tot een lognormaal verdeelde hoeveelheid oestervlees (aantal g.) dat per keer wordt gegeten.



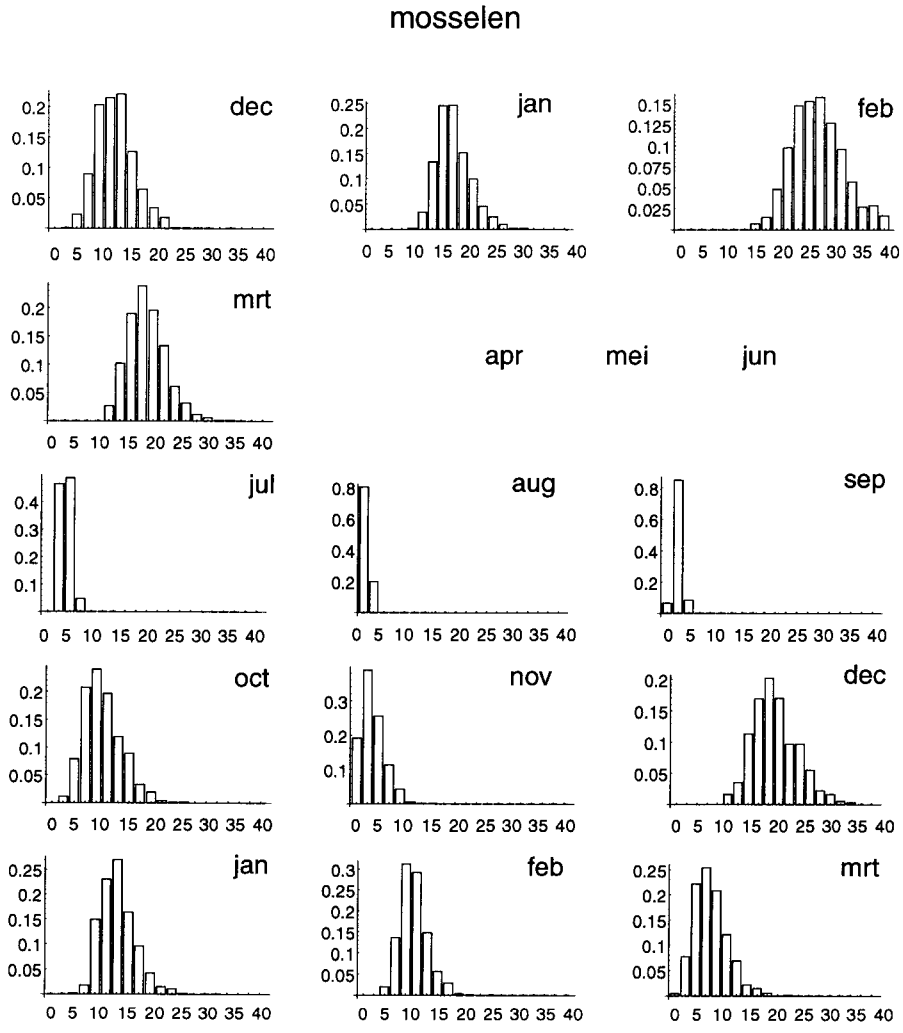
Afbeelding 2.5: Schatting van de per portie geconsumeerde hoeveelheid mosselvlees. Bij elk van de factoren: totaal aantal mosselen per standaardverpakking, netto vleesgewicht per standaardverpakking (vier verschillende gewichten per seizoen) en aantal rauwe mosselen dat per keer gegeten wordt, is een lognormale verdeling aangenomen, dit leidt tot een lognormaal verdeelde hoeveelheid mosselvlees (aantal g) dat per keer wordt gegeten.

- de geconsumeerde hoeveelheid schelpdiervlees is lognormaal verdeeld (voor mosselen met vier verschillende gewichtsklassen per seizoen).

De dosis kan nu per maand worden geschat, door trekkingen te doen uit de respectievelijk aangenomen verdelingen. Voor elke maandelijks bepaalde concentratie levert dit een frekwentieverdeling van doses op, in porties oesters en in porties mosselen.
In figuur 2.6 en 2.7 zijn de resultaten weergegeven van deze berekening. In feite is eerst een trekking gedaan uit de aangenomen verdeling voor de geconsumeerde hoeveelheid, De onzekerheid in de geschatte concentratie is verdisconteerd door bootstrap-replicaties van de MPN-data te construeren, en voor elke gereconstrueerde dataset de meest waarschijnlijke concentratie te berekenen. Elk van deze concentraties is met een van de willekeurig getrokken portiegroottes vermenigvuldigd, om een schatting van de dosis te verkrijgen. Deze procedure is voor elke maand waarin gegevens beschikbaar waren, 1000 maal herhaald (Monte Carlo methode voor onzekerheidsanalyse).
In oesters is herhaaldelijk een serie van enkel negatieve monsters gevonden. De bovengenoemde methode is dan niet bruikbaar, in plaats hiervan zou de bovengrens voor de concentratie, als aangegeven in figuur 2.2, gebruikt kunnen worden. Dit betekent dan wel een "worst case" aanname, waarbij behoorlijke overschatting zou kunnen optreden. Op de bovengrens van het geschatte infectierisico heeft dit overigens geen enkele invloed (deze ligt reeds nabij de 100% , zoals in figuur 4.3 te zien is). Voor de berekening van de kans op infectie is daarom toch enkel uitgegaan van dosisschattingen op grond van positieve monsters.



Afbeelding 2.6: Schatting van het aantal per maaltijd ingeslikte *Campylobacter lari*, berekend door sampling uit de eerder gegeven verdelingen voor de gegeten hoeveelheid oestervlees fig. 2.4 en uit onzekerheidsanalyse voor de concentraties (zie fig. 2.2). Horizontaal: dosis (aantal *C. lari*, verticaal: geschatte relatieve frekwentie waarmee deze dosis voorkomt. Voor de maanden april en mei 1994 zijn geen gegevens, vanaf april 1994 tot en met november 1994 zijn enkel negatieve monsters gevonden, net als in januari en februari 1995.



Afbeelding 2.7: Schatting van het aantal per maaltijd ingeslikte *Campylobacter lari*, berekend door sampling uit de eerder gegeven verdelingen voor de gegeten hoeveelheid mosselvlees fig. 2.5 en uit onzekerheidsanalyse voor de concentraties (zie fig. 2.1). Horizontaal: dosis (aantal *C. lari*, verticaal: geschatte relatieve frekwentie waarmee deze dosis voorkomt. Voor de maanden april, mei en juni 1994 zijn geen gegevens beschikbaar.

Hoofdstuk 3

Dosis-respons relatie

3.1 De pathogeniciteit van *Campylobacter lari*

Campylobacter jejuni en *Campylobacter coli* worden zeer frequent gerapporteerd als veroorzakers van gastro-enteritis bij de mens. Ook voor *Campylobacter lari* is de relatie met gastro-enteritis gelegd, zij het dat de isolatie uit klinische monsters veel minder frequent is (Simor en Wilcox, 1987; Darbas *et al.*, 1987; Tauxe *et al.*, 1988; Mishu *et al.*, 1992). Ook is door *C. lari* veroorzaakte sepsis beschreven, zij het incidenteel (Söderström *et al.*, 1991; Skirrow *et al.*, 1993). Het is niet duidelijk wat de oorzaak is van het lage percentage isolaties van *C. lari* uit klinisch materiaal. Uiteraard kan dit samenhangen met een lagere pathogeniteit van *C. lari* voor de mens. Echter, in veel medisch-microbiologische laboratoria wordt identificatie tot op species-niveau niet routinematig uitgevoerd vanwege de complexiteit en de problemen om op basis van fenotypische eigenschappen een juiste conclusie te trekken. Het is ook mogelijk dat de lage incidentie in klinisch materiaal (mede) wordt veroorzaakt door een geringe blootstelling, in vergelijking met *C. jejuni* en *C. coli*, die frequent worden aangetroffen in voedingsmiddelen van dierlijke oorsprong.

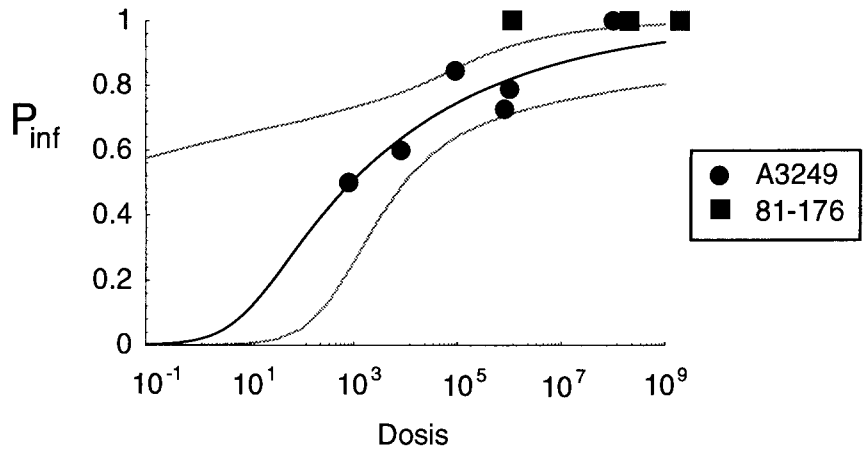
Er zijn geen vrijwilligersexperimenten beschikbaar waaruit de dosis-responscurve kan worden afgeleid. Voor de risicoschatting van het voorkomen van *C. lari* in schelpdieren wordt daarom uitgegaan van gepubliceerde vrijwilligersexperimenten met twee stammen van *C. jejuni*. Dit kan gezien worden als een worst-case aanname, omdat het niet waarschijnlijk lijkt dat de pathogeniciteit van *C. lari* groter is dan die van *C. jejuni*. Dat dit uitgangspunt niet geheel onrealistisch is blijkt uit de gegevens van een via drinkwater verspreide epidemie van gastro-enteritis (Broczyk *et al.*, 1987). Door een wanverbinding met oppervlaktewater uit Lake Ontario raakte het drinkwater sterk faecaal verontreinigd. Onder de consumenten van dit water traden 162 gevallen van gastro-enteritis op. Door vertragingen bij monstername werden pathogene micro-organismen slechts uit een klein percentage van de onderzochte faecesmonsters geïsoleerd; hiervan werd *C. lari* het meest frequent aangetroffen (7/125 naast 3 maal *C. jejuni* en 2 maal *Salmonella* spp.).

Stam	Dosis	Totaal	Geïnfecteerd	Ziek
A3249	8.10^2	10	5	1
in melk	8.10^3	10	6	1
	9.10^4	13	11	6
	8.10^5	11	8	1
	1.10^6	19	15	2
	1.10^8	5	5	0
A3249 met $NaHCO_3$	1.10^8	4	4	2
81-176	1.10^6	7	7	3
in melk	2.10^8	10	10	6
	2.10^9	22	22	9

Tabel 3.1: Resultaten van het dosis-respons experiment (Black *et al.*, 1988) voor *Campylobacter jejuni* in gezonde vrijwilligers. Dosis: ingeslikt aantal *C. jejuni* A3249 of 81-176. Totaal: aantal proefpersonen bij een bepaalde dosis, Geïnfecteerd: aantal personen met infectie (uitscheiding *C. jejuni* in de faeces), Ziek: aantal personen met symptomen van gastro-enteritis (koorts, braken, diarree). De 4 extra personen die 10^8 *C. jejuni* kregen, namen deze niet in met melk maar in een bicarbonaatoplossing.

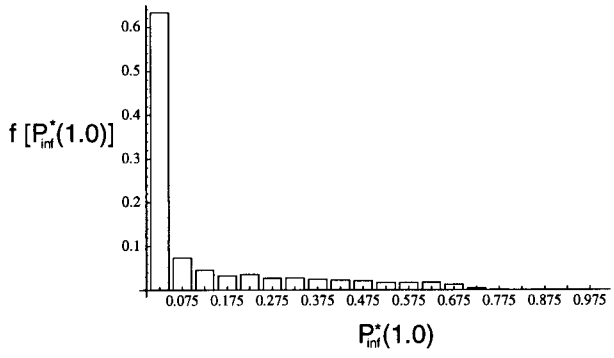
3.2 De dosis-responsrelatie voor *Campylobacter jejuni*

Over *C. jejuni* is wel gepubliceerd (Black *et al.*, 1988). Verschillende groepen gezonde, volwassen proefpersonen kregen een bepaalde dosis *C. jejuni* oraal toegediend. Afhankelijk van de grootte van de dosis werd een deel van de personen geïnfecteerd, zie tabel 3.1. Dit werd beoordeeld aan de aanwezigheid van *C. jejuni* in de faeces. Een gedeelte van deze geïnfecteerden vertoonde symptomen van gastroenteritis: koorts, braken, buikloop ("Ziek" in tabel 3.1).
Bij deze tabel dient nog het volgende opgemerkt te worden (Medema *et al.*, 1996): door Black *et al.* is beschreven dat de Campylobacter-cultuur, die voor de experimenten werd gebruikt, in feite uit twee klonen bestond, te weten een geflagelleerde (spreidende) en een niet-geflagelleerde (niet-spreidende) vorm. Van beide klonen werd een gelijke hoeveelheid in het uiteindelijke inoculum verwerkt. Uit de faeces van geïnfecteerde proefpersonen werd slechts de geflagelleerde vorm geïsoleerd. Op grond van de gerapporteerde gegevens kan niet worden uitgemaakt of dit een gevolg is van overgang in het darmkanaal van de niet-geflagelleerde naar de geflagelleerde vorm, of doordat de geflagelleerde vorm aanzienlijk meer infectieus is dan de niet-geflagelleerde vorm. Er zijn aanwijzingen dat de aanwezigheid van flagellen een virulentiefactor van *Campylobacter* is. Beweeglijkheid zou het vermogen tot kolonisatie bevorderen(Lee *et al.*, 1986; Wassenaar *et al.*, 1993); tevens bevatten de flagellen mogelijk adhesinen, die een rol spelen bij de aanhechting aan het darmepitheel (Newell *et al.*, 1994). Een mogelijke verklaring voor het feit dat



Afbeelding 3.1: Dosis-respons relatie voor infectie van humane vrijwilligers met *Campylobacter jejuni* A3249 (Black *et al.*, 1988) (punten tonen gemeten fracties uit tabel 3.1). Best passende curve volgens het Beta-Poisson model, en 95% betrouwbaarheidsgebied. P_{inf} is de kans op infectie, als functie van de dosis, het gemiddelde aantal *Campylobacter* dat ingeslikt is. Tevens aangegeven in de figuur: fracties met 81-176 geïnfecteerde proefpersonen.

enkel geflagelleerde organismen werden uitgescheiden, is een verschil in virulentie tussen beide varianten. Caldwell (1985) toonde echter aan dat het spontane ontstaan van niet–geflagelleerde kolonies een reversibel proces is, waarbij de overgang van aflagellaat naar flagellaat *in vitro* niet zo vaak ($4–8\times10^{-7}$ per cel / generatie) voorkomt als andersom ($3–5\times10^{-3}$ per cel / generatie). In een konijn komt de eerste overgang (aflagellaat $\rightarrow$ flagellaat) veel vaker voor. Daarom mag de effectieve dosis hier dus niet eenvoudigweg worden gehalveerd.
De relatie tussen de ingeslikte dosis en de fractie van het aantal proefpersonen met infectie kan gebruikt worden om een dosis-responsrelatie volgens het Beta-Poisson-model aan te passen (Haas *et al.*, 1993; Teunis *et al.*, 1994). Het resultaat is weergegeven in figuur 3.1.
Aan weerszijden van deze curve is een betrouwbaarheidsinterval aangegeven: bij een bepaalde dosis, af te lezen op de horizontale as, ligt de bijbehorende kans op infectie met 95% zekerheid tussen de beide buitenste krommen.
Opvallend is de grote onzekerheid bij lage doses. Dit is geen eigenschap van het gebruikte model, maar is een gevolg van het ontbreken van gegevens bij deze lage doses. Bij figuur 3.1 ontstaat gemakkelijk de suggestie dat het risico op infectie met *Campylobacter jejuni* nooit lager is dan zo'n 60% , ongeacht de grootte van de dosis. Bij afnemende dosis neemt de kans op een dergelijk hoge waarde voor P^*_{inf} echter zeer snel af, zie ter illustratie figuur 3.2. Ondanks het feit dat een 95% interval een P^*_{inf} van 0.6 niet uitsluit, is een waarde groter dan 0.1 weinig waarschijnlijk. Aangezien bij onzekerheidsanalyse uit deze verdeling trekkingen gedaan worden, wordt deze eigenschap van de dosis-responsrelatie vanzelf verdisconteerd in het geschatte infectierisico.



Afbeelding 3.2: Geschatte kansverdeling voor de kans op infectie bij een gemiddelde dosis van 1 *C. jejuni*. De figuur is een dwarsdoorsnede door het betrouwbaarheidsgebied rond de dosis-responscurve van figuur 3.1, bij gemiddelde dosis 1 (10^0). Horizontaal uitgezet is de kans op infectie bij deze dosis, verticaal de frequentie waarmee een dergelijke kans gevonden werd bij onzekerheidsanalyse. Hoewel hoge waarden van P^*_{inf} tot 60% voor kunnen komen, is de waarschijnlijkheid dat dit gebeurt klein.

Hoofdstuk 4

Schatting van de kans op infectie

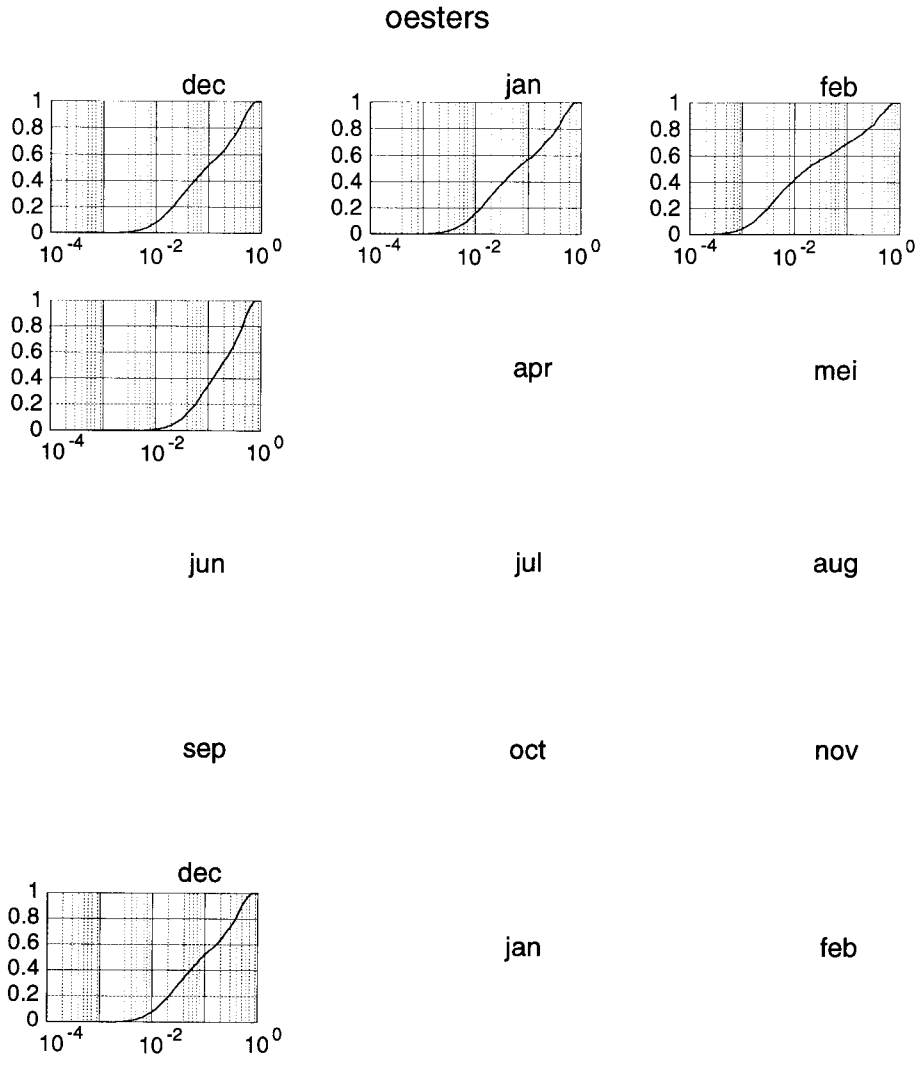
De frekwentieverdeling van de kans op infectie kan worden geconstrueerd uit de eerder getoonde gegevens (dosis uit de figuren 2.6 en 2.7, dosis-respons relatie uit figuur 3.1) door "sampling" (Monte Carlo simulatie). Uit elk van de frekwentieverdelingen voor de dosis wordt een aselecte trekking gedaan. Bij elk van de getrokken doses wordt vervolgens een trekking uit de verzameling dosis-responscurves gedaan. Uit deze twee trekkingen wordt een kans op infectie berekend. Dit wordt een groot aantal malen herhaald. Het resultaat is een verzameling schattingen van de kans op infectie na eten van één portie schelpdieren, weergegeven in de figuren 4.1 en 4.2. Voor lege plekken in deze figuren (maanden april – november en januari – februari in figuur 4.1, en april – juni in figuur 4.2), zijn geen data over de aanwezige concentratie *C. lari* voorhanden, of zijn enkel negatieve monsters gevonden, zodat bovengenoemde onzekerheidsanalyse niet mogelijk is. De kans op infectie blijkt enigszins te variëren gedurende het seizoen, voor oesters is de mediane kans op infectie 2 – 10% , voor mosselen 5 – 20% . Een 95% betrouwbaarheidsinterval voor dit risico ligt voor beide schelpdieren tussen ongeveer 0.01% en 60% .
Aangezien een consument van oesters of mosselen vaak niet slechts incidenteel een portie eet, maar dit eerder min of meer geregeld herhaalt, zijn de volgende scenario's uitgewerkt:

- maandelijks éénmaal een portie
- wekelijks (vier maal maandelijks) een portie

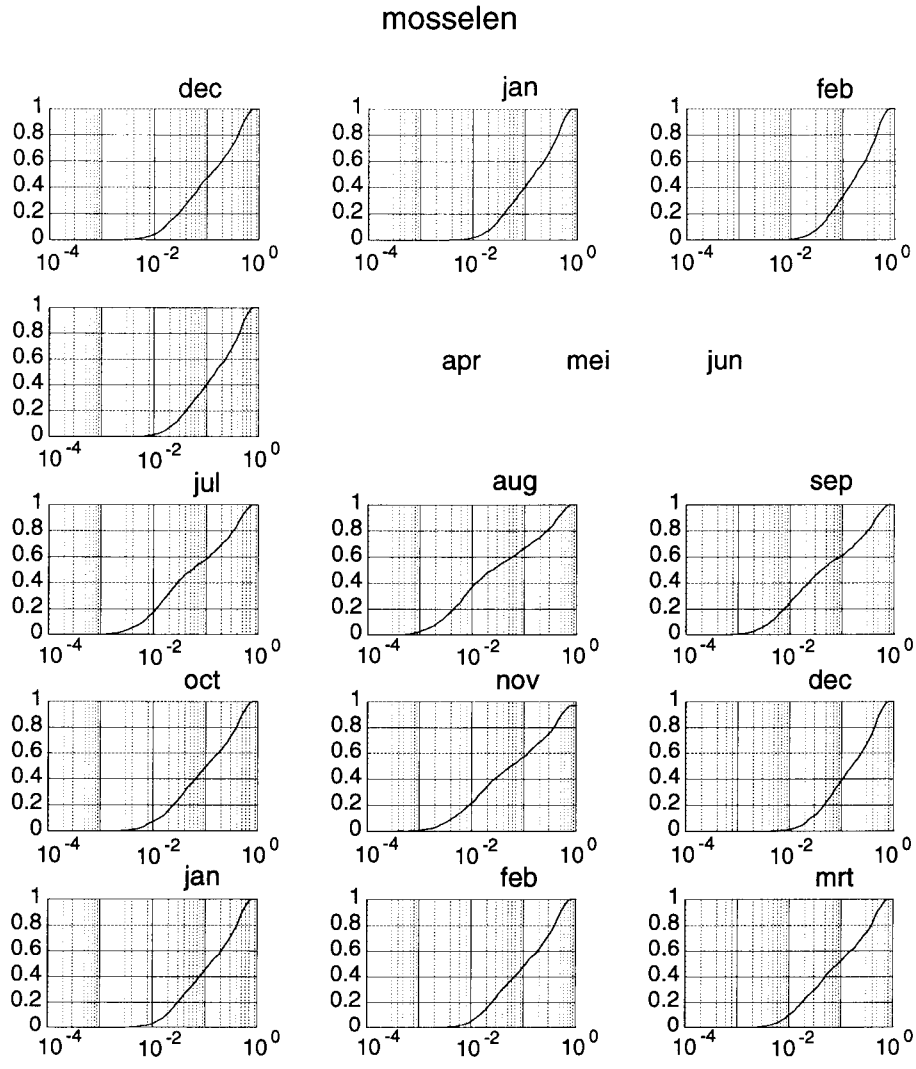
Over een periode van één jaar, de maanden april en mei uitgezonderd, omdat in deze periode geen handel plaatsvindt.
Per maand is telkens een verzameling infectierisico's geschat. Uit deze verzamelingen kan een trekking genomen worden, en de kans op infectie na n porties kan worden berekend uit:

$$P = 1 - (1 - P_1)(1 - P_2)(1 - P_3) \ldots (1 - P_n)$$

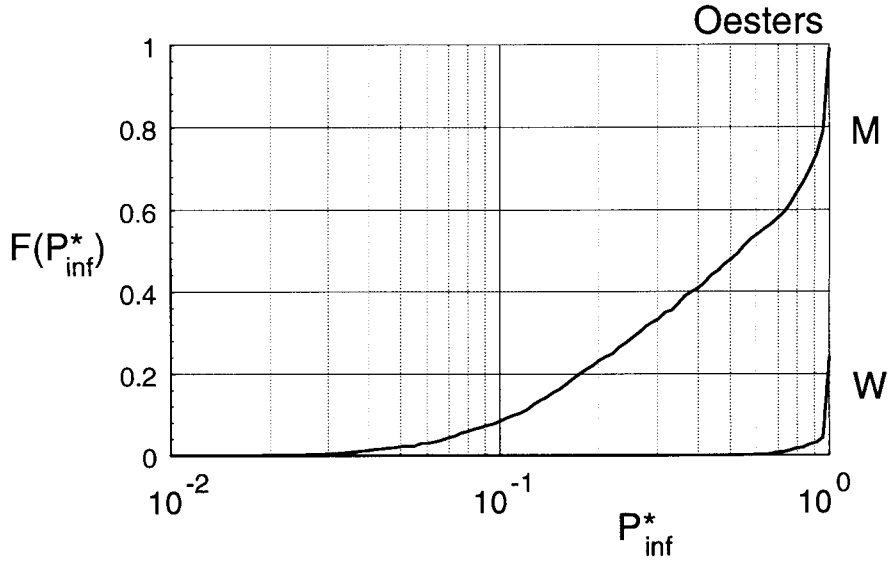
want $(1 - P_i)$ is de kans om bij de de i-de portie *geen* infectie op te lopen, dus het product van alle termen $(1 - P_i)$ is de kans om geen enkele keer infectie op te lopen. Het complement is de kans om minstens eenmaal geïnfecteerd te raken.



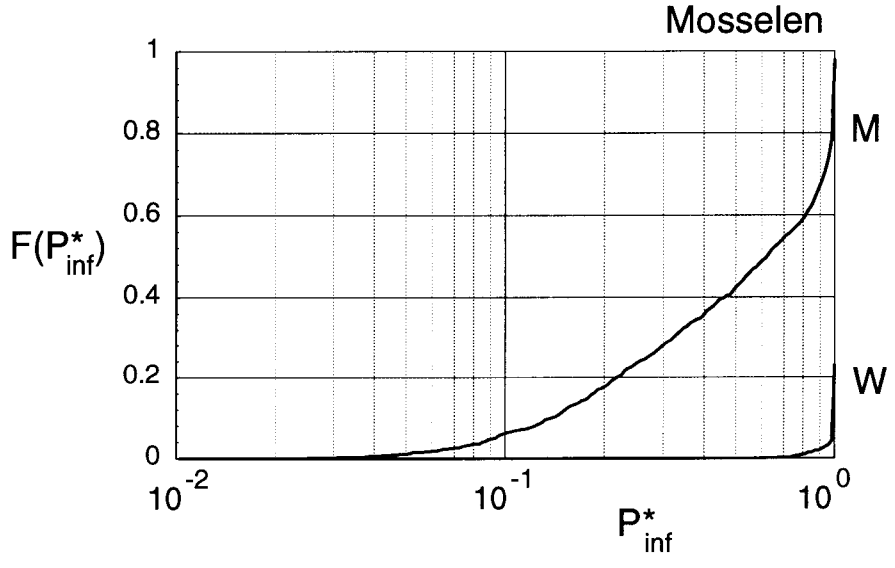
Afbeelding 4.1: Schatting van de cumulatieve verdeling van de kans op infectie na het eten van één portie oesters over de bemonsterde periode, berekend door trekking uit de kansverdelingen voor de geconsumeerde hoeveelheid, de concentratie van *Campylobacter* in het vlees, en de dosis-respons-relatie. Horizontaal: kans op infectie (P^*_{inf}). Verticaal: kans om een infectierisico lager dan P^*_{inf} te vinden.



Afbeelding 4.2: Schatting van de cumulatieve verdeling van de kans op infectie na het eten van één portie mosselen over de bemonsterde periode, berekend door trekking uit de kansverdelingen voor de geconsumeerde hoeveelheid, de concentratie van *Campylobacter* in het vlees, en de dosis-respons-relatie. Horizontaal: kans op infectie (P^*_{inf}). Verticaal: kans om een infectierisico lager dan P^*_{inf} te vinden.



Afbeelding 4.3: Cumulatieve verdeling van de kans op infectie (het infectierisico) na herhaald (M = maandelijks, W = wekelijks) eten van een portie oesters gedurende een seizoen (juni – maart). Betekenis van de assen als in figuur 4.1.



Afbeelding 4.4: Cumulatieve verdeling van de kans op infectie (het infectierisico) na herhaald (M = maandelijks, W = wekelijks) eten van een portie mosselen gedurende een seizoen (juni – maart). Betekenis van de assen als in figuur 4.2.

Het resultaat is weergegeven in de figuren 4.3 (oesters) en 4.4 (mosselen), in de bovenste curves (aangeduid met "M"). De mediane kans op infectie blijkt te liggen in de buurt van 50% (oesters), dan wel 60% (mosselen). Een 95% betrouwbaarheidsinterval ligt tussen 6 à 7 % en 99% .
Door in plaats van één trekking per maand vier maal een trekking te doen, kan de kans op infectie bij (ongeveer) wekelijkse consumptie van oesters of mosselen berekend worden. De resultaten zijn weergegeven in de onderste curves in figuur 4.3 en 4.4 (aangeduid met "W"). In dit geval zou de kans op infectie liggen tussen ongeveer 70% en 100% .
Bij deze berekening is ervan uitgegaan dat herhaalde blootstelling niet leidt tot immuniteit. Uit de gegevens van Black *etal.* (1988) blijkt dat na infectie met *Campylobacter jejuni* een stijging van IgA en IgM in het serum aantoonbaar is, die na ongeveer 11 dagen een maximum bereikt, en na 2–3 weken weer verdwenen is. Indien boostereffecten worden verwaarloosd zou de schatting van de kans op infectie na consumptie éénmaal per maand realistisch kunnen zijn. Het risico op infectie na wekelijkse consumptie is waarschijnlijk overschat.

Hoofdstuk 5

Schatting van de kans op ziekte

De gegevens uit het vrijwilligersexperiment van Black *et al.* geven geen duidelijke relatie te zien tussen de grootte van de dosis en de fractie personen met symptomen van gastro-enteritis. Als er al een eenduidige relatie is, dan is er bij toenemende dosis eerst een toename van de kans op ziekte, gevolgd door een afname. Dit is een patroon dat vaker waargenomen is bij dosis-responsexperimenten (DuPont *et al.*, 1995). Aangezien hiervoor geen duidelijke verklaring te geven is, en er zeker geen bevredigende modelbeschrijving bestaat die een betrouwbare kwantitatieve interpretatie toelaat, zijn er twee strategieën mogelijk.

Ofwel we gaan uit van de gemiddelde kans op ziekte na infectie over alle doses, met andere woorden: voor een geïnfecteerd persoon is de kans op ziekte altijd hetzelfde. Voor de onderhavige dataset voor stam A3249 komt dit neer op een kans op ziekte van 0.22 . Na infectie met stam 81-176 was de kans op ziekte 0.46 , bij doses tussen 10^6 en 10^9. Anderzijds kunnen we enkel kijken naar infectie, en de kans op infectie interpreteren als "worst case" schatting voor de kans op ziekte. De USEPA heeft deze benadering gekozen om normstelling op basis van de geschatte microbiologische veiligheid van drinkwater eenvoudiger te maken (Regli *et al.*, 1991).

Uitgaande van de fractie geïnfecteerden die ziek werd in het dosis-respons experiment, zou de infectiekans met 0.22 vermenigvuldigd kunnen worden om de kans op gastroenteritis te schatten. Per geconsumeerde dosis oesters zou dit leiden tot een ziektekans van 0.4 – 2% , afhankelijk van het tijdstip van consumptie. Voor mosselen leidt deze aanname tot een geschatte kans op acute gastro-enteritis van 1 – 4% . Maandelijkse consumptie van een portie oesters gedurende een jaar (geheel seizoen) leidt dan tot een mediane kans op ziekte van 11% , voor mosselen 13% .

Hierbij moet opgemerkt worden dat dit gegevens voor *C. jejuni* betreft, mogelijk een sterker pathogeen dan *C. lari.* Ditzelfde experiment is echter verricht met gezonde, volledig immuuncompetente proefpersonen, terwijl de mosselen ook gegeten kunnen worden door een persoon die tot een risicogroep behoort. De invloed van immuunstatus op deze laatste stap (infectie $\rightarrow$ ziek) zou groter kunnen zijn dan die op de eerste stap (blootstelling $\rightarrow$ infectie).

Verder is de invloed aangetoond van maagzuur op de kans op ziekte: na toedienen

van een inoculum van 10^8 in een oplossing van 2 g natriumbicarbonaat werden 2/4 vrijwilligers ziek, tegen 0/5 vrijwilligers die hetzelfde inoculum met melk kregen toegediend (zie tabel 3.1).

Hoofdstuk 6

Conclusies en Discussie

De conclusie uit deze verkennende berekening is dat een éénmalige consument van een portie met *C. lari* besmette oesters, afhankelijk van het tijdstip van consumptie, ongeveer 2 – 10% kans op infectie heeft (betrouwbaarheidsinterval 0.01 – 60%). Consumptie van een portie ongekookte met *C. lari* besmette mosselen levert een kans van ongeveer 5 – 20% (betrouwbaarheidsinterval 0.01 – 60%) op om infectie op te lopen met *Campylobacter lari.* De kans op diarrhee zou dan ongeveer 20% hiervan kunnen bedragen: 0.4 – 2% voor oesters, 1 – 4% voor mosselen (maximaal tot 12 %).

Consumptiegegevens voor ongekookte mosselen en oesters door de gehele Nederlandse bevolking zijn niet beschikbaar, zodat vertaling van het berekende risico naar verwachte aantallen patienten nog niet mogelijk is.

Maandelijkse consumptie van een dergelijke portie oesters zou de jaarlijkse kans op infectie verhogen tot 50% (mediaan, 95% betrouwbaarheidsinterval 6 – 99%), bij mosselen zelfs tot 60% (7 – 99%).

Bij nog hogere consumptiefrekwenties (wekelijks) stijgt de geschatte jaarkans op infectie tot nabij 100% . Echter, personen met een dergelijk consumptiepatroon (bij oesters wellicht zeldzaam) kunnen beschermende immuniteit ontwikkelen, zodat de kans op infecties en/of symptomen bij deze groep afneemt of zelfs wegvalt.

Voordeel van het gebruik van scenario's voor de schatting van het geaccumuleerde risico is, dat hierbij spreiding in de geconsumeerde hoeveelheid (portie) kan worden verdisconteerd, evenals seizoensgebonden variatie in de concentratie *C. lari* in het schelpdiervlees. Op deze wijze wordt een meer realistische schatting van het infectierisico verkregen, dan wanneer de kans op infectie per geconsumeerde oester/ mossel zou worden geschat.

Koken van de mosselen leidt tot een verwaarloosbaar infectierisico, indien dit gebeurt volgens standaardrecept (volgens de aanwijzingen op de verpakking: driemaal schudden na het bereiken van de kooktemperatuur). Indien mosselen onmiddellijk na openen van de schelp gegeten worden, kan geen absolute veiligheid gegarandeerd worden.

6.1 Aannames

De meest duidelijke conclusie die getrokken kan worden is, dat er grote behoefte is aan meer, vooral kwantitatieve gegevens. Daar waar zulke gegevens ontbraken, hebben we zo realistisch mogelijke aanames gedaan. Wanneer het gaat om de schatting van een gezondheidsrisico, geldt in het algemeen dat a priori aannames conservatief moeten zijn. Dat wil zeggen: probeer onderschatting van het risico te vermijden, bij voorbeeld door bij gebrek aan specifieke informatie, indien mogelijk, uit te gaan van "worst case" aannames. In het onderhavige rapport is een aantal aannames gedaan, hierbij is aangegeven welke waarschijnlijk als "worst case" beschouwd mogen worden:
Met betrekking tot de eigenschappen van de pathogene micro-organismen:

- *Campylobacter jejuni* A3249 is minstens zo infectieus als *C. lari* (worst case)
- stam A3249 minstens zo virulent als de in schelpdieren aanwezige stammen van *C. lari* (worst case)
- geflagelleerde en niet geflagelleerde varianten van A3249 zijn even infectieus

De schatting van de dosis *C. lari* waaraan consumenten van schelpdieren zijn blootgesteld:

- *C. lari* "random" (Poisson) verdeeld in schelpdiervlees
- gewichten van oesters ("Creuses") en mosselen liggen in de buurt van standaard handelsgewichten (voor oesters worst case)
- oester- en mosseleters consumeren per maaltijd een half tot een heel dozijn rauwe schelpdieren (worst case)

6.2 Onzekerheidsanalyse

Van alle factoren die bijdragen tot het geschatte infectie- en ziekterisico is de grootte onzeker. Deze onzekerheid bestaat deels uit natuurlijke variabiliteit (verschillen tussen pathogene micro-organismen, verschillende gastheereigenschappen, variaties in concentratie, etc.). Anderzijds kunnen vele factoren niet nauwkeurig worden bepaald, bij voorbeeld door beperkingen van de experimentele opzet. Bronnen van onzekerheid die verdisconteerd zijn in het bij de berekening van de dosis, zijn:

- de onzekerheid in de concentratie van campylobacters in schelpdiervlees, als gevolg van het beperkte aantal ingezette buizen
- variaties in deze concentratie door het seizoen heen
- variatie in het geconsumeerde vleesgewicht, als gevolg van variaties in het gewicht van een oester/mossel, en variatie in het per portie geconsumeerde aantal oesters/mosselen

Bij de dosis-responsanalyse is rekening gehouden met:

- kleine aantallen vrijwilligers per gebruikte dosis
- afwezigheid van metingen bij lage doses

Niet meegenomen zijn:

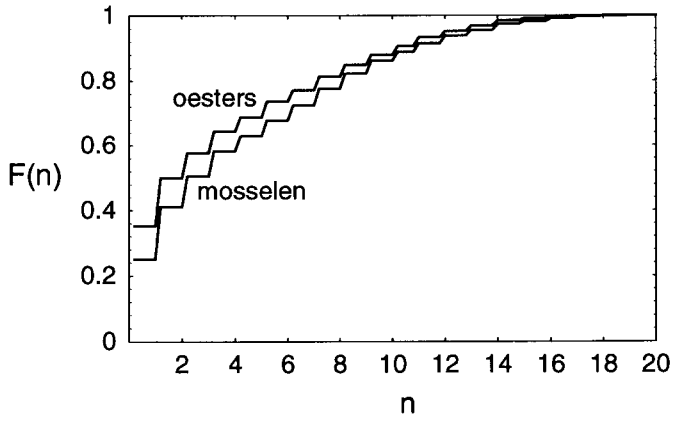
- geclusterd voorkomen van campylobacters in schelpdiervlees (niet mogelijk op grond van de beschikbare experimentele gegevens)
- de soort- en stamspecificiteit van de dosis-responsrelatie
- eventueel verhoogde gevoeligheid als gevolg van verminderde immuuncompetentie van consumenten

6.3 Verder onderzoek

De geschatte risico's zijn niet gering, voldoende aanleiding dus om de gebruikte gegevens en methodes zorgvuldig te analyseren. Voor de betrouwbaarheid van de risicoschatting kritische informatie is:

- aantallen *Campylobacter lari* in mosselen en oesters, zodat een betrouwbaarder beeld van de spreiding verkregen wordt.
- experimentele dosis-responsgegevens voor infectie/ziekte veroorzaakt door *C. lari* in de mens, ook bij lage doses (waarbij slechts een kleine fractie van de proefpersonen geïnfecteerd wordt)

Indien schatting van het risico voor de nederlandse bevolking gewenst is, is informatie nodig over de hoeveelheden geconsumeerde mosselen/oesters in Nederland (uitgesplitst naar bereidingswijze) en de spatiotemporele verdeling daarvan. De totaal omgezette hoeveelheden schelpdieren zijn wellicht te achterhalen, maar een groot deel hiervan wordt gebruikt voor conserven. Gegevens over individuele consumptie van rauwe oesters en mosselen zijn niet beschikbaar.
De hoogte van de geschatte infectierisico's lijkt voldoende voor een vrijwilligersstudie. Een indruk van de haalbaarheid kan worden verkregen uit de te verwachten resultaten bij een groep personen die allemaal een portie onverhitte schelpdieren consumeren. Uitgaande van 20 personen, die elk een portie oesters of mosselen eten, besmet met een dosis zoals bij voorbeeld bepaald in de maand december 1994 (zie de figuren 4.1 en 4.2), kan de frekwentieverdeling van het aantal geïnfecteerde personen bepaald worden. In figuur 6.1 is deze verdeling gegeven, voor oesters en rauwe mosselen. De kans dat niet één persoon geïnfecteerd wordt, is 36% (oesters), dan wel 24% (mosselen). Met 50% zekerheid zouden 1 – 2 personen (oesters) of 1 – 3 personen (mosselen) infectie oplopen na een schelpdiermaaltijd. Op grond van de hierboven uitgewerkte risicoschatting lijkt het aannemelijk dat een dergelijke studie al bij kleine aantallen proefpersonen een hoge kans van slagen heeft.



Afbeelding 6.1: Door "sampling" uit de risicoverdeling voor de maand december 1994 (figuur 4.1 en 4.2) bepaalde frekwentieverdelingen voor het verwachte aantal geïnfecteerde personen als 20 personen ieder éénmaal een portie oesters/mosselen te eten krijgen.

Literatuuropgave

Bandres JC, Mathewson JJ, DuPont HL. Heat susceptibility of bacterial enteropathogens. Archives of Internal Medicine 1988;148:2261–2263.

Black RE, Levine MM, Clements ML, Hughes TP, Blaser MJ. Experimental *Campylobacter jejuni* infection in humans. Journal of Infectious Diseases 1988; 157(3):472–479.

Bon J, Keizer C. Beschouwing over het koken van schelpdieren. rapport RIVO-DLO C011/95, Rijkinstituut voor Visserijonderzoek, Dienst Landbouwkundig onderzoek, IJmuiden 1995.

Borgdorff MW. *Campylobacter lari* bij de mens: prevalentie bij patiënten met gastro-enteritis en associatie met het eten van verse oesters en mosselen. Concept onderzoeksvoorstel, bijlage bij brief nr 1408/95 CIE MB/sd (aan D. Groothuis), Bilthoven, 28 april 1995.

Broczyk A, Thompson S, Smith D, Lior H. Water-borne outbreak of *Campylobacter laridis* - associated gastroenteritis. The Lancet 1987;i:164–165.

Caldwell MBP, Guerry EC, Lee EC, Burrans JP, Walker RI. Reversible expression of flagella in *Campylobacter jejuni* enteritis. Infection and Immunity 1985; 42:1176–1182.

Darbas H, Jean-Pierre H, Roussenq-Jean A, Boyer G. Un cas de diarrhée à *Campylobacter laridis*: premier isolement en France? La Presse Medicale 1987;16:35.

DuPont HL, Chappell CL, Sterling CR, Okhuysen PC, Rose JB, Jakubow ski W. The infectivity of *Cryptosporidium parvum* in healthy volunteers. The New England Journal of Medicine 1995;332(13):855–859.

Endtz HP, Vliegenthart JS, Vandamme P. Genotypic diversity of *Campylobacter lari* isolated from mussels and oysters in the Netherlands. in press in: Applied and Environmental Microbiology.

Haas CN, Rose JB, Gerba C, Regli S. Risk assessment of virus in drinking water. Risk Analysis 1993;13(5):545–552.

Koff RS, Sear HS. Internal temperature of steamed clams. New England Journal of Medicine 1967;276(13):737–739.

Lee A, O'Rourke JL, Barrington PJ, Trust TL. Mucus colonization by *Campylobacter jejuni*: a mouse cecal model. Infection and Immunity 1986;51:536–546.

Medema GJ, Teunis PFM, Havelaar AH, Haas CN. Assessment of the dose-response relationship of *Campylobacter jejuni*. submitted to: International Journal of Food Microbiology.

Millard J, Appleton H, Parry JV. Studies on heat inactivation of hepatitis A virus with special reference to shellfish. Part 1: Procedures for infection and recovery of virus from laboratory-maintained cockles. Epi demio logy and Infection 1987; 98:397–414.

Mishu B, Patton CM, Tauxe RV. Clinical and epidemiologic features non-jejuni, non-coli *Campylobacter* species. In: Nachamkin I, Blaser MJ, Tompkins LS, red., *Campylobacter jejuni*: current status and future trends. Washington: American Society for Microbiology, 1992; p. 31–41.

Moore JE, Matsuda M, Wilson TS, Murphy PG, Wilson IG, Wareing DRA. Phenotypic and genotypic characterization of urease-positive thermophilic *Campylobacter* (UPTC) isolated in N. Ireland. In: Newell DG, Ketley J, Feldman RA, red., Abstracts of the 8th International Workshop on campylobacters, helicobacters and related organisms, Winchester, United Kingdom. 1995; p. 74.

Newell DG, McBride H, Saunders F, Dehele Y, Pearson AD. The virulence of clinical and environmental isolates of *Campylobacter jejuni*. Journal of Hygiene Cambridge 1994;94:45–54.

Regli S, Rose JB, Haas CN, Gerba CP. Modeling the risk from *Giardia* and viruses in drinking water. Journal of the AWWA 1991;83:76–84.

Simor AE, Wilcox L. Enteritis associated with *Campylobacter laridis*. Journal of Clinical Microbiology 1987;25:10–12.

Skirrow MB, Jones DM, Sutcliffe E, Benjamin J. *Campylobacter* bacteraemia in England and Wales, 1981-91. Epidemiology and Infection 1993;110:567–573.

Söderström C, Schaløon C, Walder M. Septicaemia caused by unusual *Campylobacter* species (*C. laridis* and *C. mucosalis*). Scandinavian Journal of Infectious Diseases 1991;23:369–371.

Tauxe RV, Hargrett-Bean N, Patton CM, Wachsmuth IK. *Campylobacter* isolates in the United States, 1982-1986. Morbidity and Mor ta li ty Weekly Reports 1988; 37(SS-2):1–13.

Teunis PFM, Havelaar AH, Medema GJ. A literature survey on the assessment of microbiological risk for drinking water. National Institute of Public Health and the Environment 1994. RIVM report nr. 734301006.

Vliegenthart JS. Aanwezigheid en betekenis van *Campylobacter* in schelpdieren. De Waren Chemicus 1994;24:115–117.

Wassenaar TM, van der Zeijst BAM, Ayling R, Newell DG. Colonization of chicks by motility mutants of *C. jejuni* demonstrates the importance of flagellin A expression. Journal of General Microbiology 1993;139:1171–1175.