

RIVM rapport 285859 009

**Surveillance van bacteriële zoonose-
verwekkers bij landbouwhuisdieren**

Periode april 1997 tot en met maart 1998

A.E. Heuvelink, J.J.H.C. Tilburg, N. Voogt,
W. van Pelt, W.J. van Leeuwen, J.M.J. Sturm,
A.W. van de Giessen

juni 1999

Dit onderzoek werd verricht in opdracht en ten laste van de Inspectie Gezondheidsbescherming, Waren en Veterinaire Zaken, in het kader van project 285859, getiteld Bacteriële Zoonosen.

Abstract

In order to obtain reliable data on the prevalences and trends of zoonotic agents in farm animals in the Netherlands, a monitoring system based on statistical principles was implemented in April 1997. This report presents the results of the first year of monitoring. The monitoring was focused on the occurrence of *Salmonella* spp. and *E. coli* O157 in broilers, laying hens, veal calves, and dairy cattle. In addition, broiler flocks were examined for the presence of (thermophilic) *Campylobacter* spp. and a selection of flocks from all farm animal categories were examined for the presence of verocytotoxin (VT)-producing *E. coli* (VTEC) of all serotypes. The prevalences of the zoonotic agents were estimated at flock level. Flocks were sampled by randomly collecting fresh faecal droppings on the farms.

Salmonella spp. were isolated from 22.0% of the broiler flocks ($n=100$), from 15.3% of the layer flocks ($n=163$), and from 1.6% of the veal calves flocks ($n=192$). *S. Enteritidis* was isolated from 5.5% of the layer flocks. *Salmonella* spp. were not isolated from any of the dairy cattle herds ($n=136$). The prevalence of *Campylobacter* in broiler flocks ($n=84$) was 29.8%. *E. coli* O157 was isolated from 4.4% of the dairy cattle herds, from 1.6% of the veal calves herds ($n=191$), and from one of the layer flocks. *E. coli* O157 was not isolated from any of the broiler flocks. Of the veal calves herds, the dairy cattle herds, the layer flocks and the broiler flocks, 40.5%, 17.2%, 4.4%, and 3.2% were found positive for VTEC, respectively.

It can be concluded that poultry are still an important reservoir of *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. Cattle have to be considered as an important reservoir of *E. coli* O157 and other VTEC serotypes.

Voorwoord

Voor de uitvoering van dit onderzoek was de bijdrage van de medewerkers van de voormalige regionale Veterinaire Inspecties van de Volksgezondheid onontbeerlijk. Wij danken hen hartelijk voor het verzamelen van de monsters en het invullen van de enquêteformulieren. N. Nagelkerke bedanken we voor zijn hulp bij de statistische analyse van de data. Tenslotte gaat onze dank uit naar de Gezondheidsdienst voor Dieren, de Stichting Kwaliteitsgarantie Vleeskalversector en de betrokken veehouderijbedrijven voor hun medewerking aan dit onderzoek.

Inhoud

SAMENVATTING	5
1. INLEIDING	6
2. MATERIAAL EN METHODEN	8
2.1 PLAN VAN AANPAK	8
2.2 SELECTIE VAN KOPPELS	8
2.3 MONSTERNAME	9
2.4 MICROBIOLOGISCH ONDERZOEK	9
2.4.1 <i>Salmonella</i>	9
2.4.2 <i>Campylobacter</i>	10
2.4.3 <i>E. coli O157</i>	10
2.4.4 <i>VTEC</i>	11
2.5 STATISTISCHE ANALYSE	11
3. RESULTATEN	12
3.1 SALMONELLA	13
3.2 CAMPYLOBACTER	16
3.3 <i>E. COLI O157</i>	17
3.4 <i>VTEC</i>	18
4. DISCUSSIE	20
LITERATUURLIJST	23
BIJLAGEN.....	25
1 PRIMAIRE STEEKPROEFGROOTTEN	25
2 GEOGRAFISCHE SPREIDING	29
3 LEEFTIJDVERDELING POSITIEVE KOPPELS	33
4 RESULTATEN SURVEILLANCE VAN ZOÏNOSEVERWEKKERS BIJ LANDBOUWHUISDIEREN	34
5 SALMONELLA	35
VERZENDLIJST.....	38

Samenvatting

Sinds april 1997 vindt een gestructureerde surveillance van zoonoseverwekkers bij landbouwhuisdieren plaats. In dit rapport zijn de resultaten van het eerste jaar (april 1997 tot en met maart 1998) beschreven. De surveillance vond plaats bij vleeskuikens, legkippen, vleeskalveren en melkkoeien en was hoofdzakelijk gericht op *Salmonella* en *E. coli* O157. Koppels vleeskuikens werden tevens onderzocht op het voorkomen van *Campylobacter*, terwijl een selectie van de koppels werd onderzocht op het voorkomen van verocytotoxine (VT)-producerende *E. coli* (VTEC) in het algemeen. De surveillance werd uitgevoerd voor schatting van de prevalentie van de doelorganismen op koppelniveau. In totaal werden in het eerste jaar mestmonsters van 591 koppels landbouwhuisdieren verzameld op de boerderij, uit te splitsen naar 100 koppels vleeskuikens, 163 koppels legkippen, 192 koppels vleeskalveren en 136 koppels melkkoeien.

Salmonella spp. werden geïsoleerd uit 22,0% van de koppels vleeskuikens, uit 15,3% van de koppels legkippen en uit 1,6% van de koppels vleeskalveren. *S. Enteritidis* werd geïsoleerd uit 5,5% van de koppels legkippen. Bij melkkoeien werden géén *Salmonella* spp. aangetoond. De prevalentie van *Campylobacter* bij vleeskuikens ($n=84$ koppels) was 29,8%. *E. coli* O157 werd geïsoleerd uit 4,4% van de onderzochte koppels melkkoeien, 1,6% van de koppels vleeskalveren ($n=191$) en uit één van de koppels legkippen. Alle onderzochte koppels vleeskuikens werden negatief bevonden voor *E. coli* O157. Van de koppels vleeskalveren bleek 40,5% positief voor VTEC, van de koppels melkkoeien 17,2%, van de koppels legkippen 4,4% en van de koppels vleeskuikens 3,2%. De betekenis voor de volksgezondheid van het grote aantal VTEC-positieve koppels rundvee is niet duidelijk. Hiervoor is meer inzicht vereist in de rol die de verschillende typen VTEC spelen bij het veroorzaken van gezondheidsproblemen bij de mens.

Op grond van de resultaten van het eerste jaar van deze studie kan worden gesteld dat pluimvee nog steeds een belangrijk reservoir is van *Salmonella* spp. en *Campylobacter* spp. Rundvee moet worden beschouwd als een belangrijk reservoir van *E. coli* O157 en overige typen VTEC.

1. Inleiding

Het Staatstoezicht op de Volksgezondheid heeft ondermeer tot taak toe te zien op de wering en bestrijding van ziekten die via dieren of producten van dierlijke oorsprong de volksgezondheid bedreigen. Een belangrijke groep zoonoseverwekkers wordt gevormd door de bacteriële gastro-enteritis verwekkers van dierlijke oorsprong. Op basis van een in 1991 uitgevoerd populatieonderzoek wordt geschat dat zich in Nederland jaarlijks circa 2 tot 7 miljoen gevallen van gastro-enteritis voordoen^{8,21}. *Salmonella* en *Campylobacter* veroorzaken naar schatting samen circa 400.000 gevallen per jaar.

Jarenlang was *S. Typhimurium* het meest voorkomende *Salmonella* serotype bij de mens. Sinds het eind van de jaren 80 is in veel Europese landen en de Verenigde Staten een sterke toename van het aantal *S. Enteritidis* isolaten uit de mens geconstateerd. Ook in Nederland is sinds 1987 het aantal infecties veroorzaakt door *S. Enteritidis* duidelijk toegenomen. Tot 1987 was het percentage *S. Enteritidis* isolaten niet hoger dan 4%, maar dit percentage is sterk toegenomen tot 44% van het totaal aantal *Salmonella* isolaten in 1997. *S. Enteritidis*-infecties worden voornamelijk geassocieerd met de consumptie van rauwe of onvoldoende verhitte eieren en eiproducten. Bij pluimvee is net als bij de mens een sterke toename van het aantal *S. Enteritidis* isolaties waargenomen, terwijl het aantal *S. Enteritidis* isolaties bij rundvee en varkens gelijk is gebleven. Na *S. Enteritidis* is *S. Typhimurium* het meest voorkomende serotype bij de mens gebleven. In 1997 behoorde 31% van de ingezonden *Salmonella* isolaten uit de mens tot dit serotype. *S. Typhimurium*-infecties worden vooral geassocieerd met consumptie van onvoldoende verhit pluimvee- en varkensvlees.

Terwijl *Salmonella*-infecties vaak optreden als explosies, treden *Campylobacter*-infecties hoofdzakelijk sporadisch op. In Nederland wordt pluimveevlees beschouwd als de belangrijkste besmettingsbron van *Campylobacter* spp. voor de mens. *Campylobacter* spp. zijn frequent aanwezig in de darmflora van pluimvee. Uit verschillende Nederlandse studies is gebleken dat circa driekwart van de *Campylobacter* isolaten van pluimvee *C. jejuni* betreft en ongeveer één kwart *C. coli*, de belangrijkste pathogene species voor de mens^{5,10}. Onderzoek van de Inspectie Gezondheidsbescherming, Waren en Veterinaire Zaken (Inspectie W&V), voorheen Inspectie Gezondheidsbescherming/Keuringsdienst van Waren, heeft uitgewezen dat in 1997 circa 32% van de (verse) kipproducten ($n=1314$) in de detailhandel besmet was met *Campylobacter* (circa 30% was besmet met *Salmonella*) (H. van der Zee, Inspectie W&V, Regio Oost, mondelinge communicatie).

Een betrekkelijk nieuwe groep bacteriële zoonoseverwekkers wordt gevormd door de enterohemorragische *Escherichia coli* (EHEC), met als bekendste vertegenwoordiger *E. coli* serogroep O157¹¹. EHEC kunnen bij de mens ernstige bloederige diarree veroorzaken, waarbij als complicatie het hemolytisch uremisch syndroom (HUS) op kan treden. HUS vormt de belangrijkste oorzaak van acute nierinsufficiëntie bij jonge kinderen. In Nederland ontwikkelen jaarlijks naar schatting circa 30 kinderen HUS. De virulentie van EHEC stammen berust ondermeer op de productie van verocytotoxinen (VT1 en/of VT2). Inmiddels zijn naast *E. coli* O157 meer dan 100 VT-producerende *E. coli* (VTEC) serotypen geïdentificeerd, waarvan de volksgezondheidsrelevantie echter nog niet duidelijk is. Afgezien van de productie van VT spelen andere, deels nog onbekende, factoren een rol bij de virulentie van EHEC. De meeste *E. coli* O157-infecties bij de mens zijn geassocieerd met consumptie van onvoldoende verhit (gemalen) rundvlees en ongepasteuriseerde melk. Rundvee wordt dan ook beschouwd als een belangrijk natuurlijk reservoir van *E. coli* O157 en andere VTEC typen. Onderzoek van de Inspectie W&V heeft uitgewezen dat in 1996 circa 1% van het onderzochte rundvlees ($n=325$), 1% van het onderzochte varkensvlees ($n=262$) en 1% van het onderzochte gemengd vlees (rund/varken) ($n=255$) besmet was met O157 VTEC¹. In 1997 werden vergelijkbare

besmettingspercentages bepaald.

Teneinde bovengenoemde en andere zoönoseverwekkers adequaat te kunnen bestrijden is het van belang te beschikken over betrouwbare informatie over het vóórkomen van deze organismen bij de mens, dierlijke producten en het dier, alsmede over de mogelijkheden voor interventie. Tevens dienen EU Lid-Staten in het kader van de Zoönosen Richtlijn (92/117/EEG) informatie te verzamelen over het voorkomen, en de trends hierin, van zoönoseverwekkers bij mens, dier en dierlijk product en daarover jaarlijks naar Brussel te rapporteren. Surveillance van bepaalde zoönoseverwekkers bij de mens vindt plaats in samenwerking met de Streeklaboratoria voor de Volksgezondheid². Bovendien wordt informatie verkregen over bepaalde zoönosen en zoönoseverwekkers aan de hand van de resultaten van huisartsenpeilstation- en populatieonderzoek^{21,22}. Op productniveau vindt surveillance van zoönoseverwekkers plaats in samenwerking met de Inspectie W&V. Tot nu toe heeft géén gestructureerde surveillance van zoönoseverwekkers bij het dier plaatsgevonden. Beschikbare gegevens over het voorkomen van verschillende *Salmonella* spp. bij het dier zijn vaak gebaseerd op ongedefinieerde monsters. Het betreft met name isolaten ingezonden door de Gezondheidsdienst voor Dieren (GD).

Vanaf 1 april 1997 vindt wèl een gestructureerde surveillance van zoönoseverwekkers bij landbouwhuisdieren plaats. Naast het verkrijgen van inzicht in het vóórkomen, en de trends hierin, van zoönoseverwekkers bij landbouwhuisdieren heeft deze surveillance ten doel om aan de hand van typering epidemiologische verbanden te kunnen leggen tussen het vóórkomen van bepaalde pathogenen bij het landbouwhuisdier en het optreden van infecties bij de mens. Daarnaast dient het onderzoek inzicht te verschaffen in risicofactoren voor besmetting van landbouwhuisdieren met bepaalde zoönoseverwekkers en daarmee een basis te verschaffen voor meer gericht vervolgonderzoek of het nemen van preventieve maatregelen. Tenslotte zal de surveillance van *Salmonella* en *Campylobacter* bij pluimvee worden gebruikt om het effect te meten van de Plannen van Aanpak in de pluimveesector die in 1997 door de Productschappen Vee, Vlees en Eieren (PVE) werden geïmplementeerd ter bestrijding van deze pathogenen^{13,14}. In dit rapport wordt een overzicht gegeven van de resultaten verkregen in het eerste jaar (april 1997 tot en met maart 1998). De surveillance vond plaats bij vleeskuikens, legkippen, vleeskalveren en melkkoeien en was primair gericht op *Salmonella* en *E. coli* O157. Koppels vleeskuikens werden tevens onderzocht op het voorkomen van *Campylobacter*, terwijl een selectie van de koppels werd onderzocht op het voorkomen van VTEC in het algemeen en de parasitaire zoönoseverwekkers *Cryptosporidium* en *Giardia*. Vanwege de recente varkenspestproblematiek kwam de monsternamen bij vleesvarkens in deze periode te vervallen.

2. Materiaal en methoden

2.1 Plan van aanpak

Surveillance van zoonoseverwekkers vond plaats op koppelniveau. Daarbij werd gebruik gemaakt van getrapte steekproeven, gebaseerd op een LUW/RIVM-rapport getiteld "Guidelines for the determination of *Salmonella* prevalence in farm animal populations"¹². De monsternamen vond plaats op het veehouderijbedrijf.

De primaire steekproefgrootte betrof het aantal te bemonsteren koppels in een dierpopulatie ter bepaling van de prevalentie van het aantal positieve koppels in die populatie. Deze steekproefgrootte is afhankelijk van de populatiegrootte, de verwachte prevalenties (indien onbekend of > 50% werd deze gesteld op 50% voor maximale steekproefgrootte), de gewenste betrouwbaarheid en de nauwkeurigheid van de te schatten prevalentie. Kengetallen werden ontleend aan het rapport "Zoönosen en zoonoseverwekkers Nederland", Juli 1996, Ministeries VWS en LNV²⁵ en in geval van vleeskalveren aan de door de Stichting Kwaliteitsgarantie Vleeskalversector (SKV) verstrekte gegevens. De gewenste betrouwbaarheid van de schattingen werd gesteld op 90% en de gewenste maximale absolute fout op 5%. De resultaten van de berekeningen van de primaire steekproefgrootten voor de verschillende diercategorieën staan weergegeven in bijlage 1A t/m 1D.

De secundaire steekproefgrootte betrof het aantal te bemonsteren dieren (aantal te nemen mestmonsters) per koppel voor detectie van de doelorganismen in dat koppel. Deze steekproefgrootte is afhankelijk van de koppelgrootte, de gewenste minimale detectie-limiet en de gewenste betrouwbaarheid. In dit onderzoek werd uitgegaan van een gewenste betrouwbaarheid van 95% en een minimale detectielimiet van 5%. Afhankelijk van het aantal dieren per koppel werd een aantal mestmonsters verzameld, zoals aangegeven in tabel 1. Individuele monsters werden gepooled volgens het schema in deze tabel.

Tabel 1. Secundaire steekproefgrootten

Aantal dieren per koppel	Aantal mestmonsters	Aantal mengmonsters
1 - 24	gelijk aan aantal dieren tot een maximum van 20	2
25 - 29	20	2
30 - 39	25	2
40 - 49	30	3
50 - 59	35	3
60 - 89	40	4
90 - 199	50	4
200 - 499	55	5
≥500	60	5

2.2 Selectie van koppels

Door de GD werd een selectie gemaakt van bedrijven met vleeskuikens, legkippen, vleeskalveren en melkkoeien. Daarbij werden de bedrijven met vleeskalveren en melkvee gestratificeerd naar bedrijfsgrootte (Bijlage 1C t/m 1D). Binnen de strata werden ad random

bedrijven geselecteerd voor monstername. Vanaf 1 oktober 1997 vond de selectie en stratificatie van bedrijven met vleeskalveren plaats door de SKV en werd tevens gestratificeerd naar leeftijdscategorie (categorieën 0-6, 7-12, 13-18 en ≥ 19 weken oud). Pluimveebedrijven werden ad random geselecteerd, aangezien bedrijfsbestanden met bedrijfsgrootten niet beschikbaar waren. Geselecteerde bedrijven werden door de GD of de Veterinaire Inspectie van de Volksgezondheid (VI) Zuid (in geval van vleeskalveren) via een standaard aanmeldingsbrief verzocht om medewerking aan het surveillance-programma. Bedrijven die niet afwijzend op dit verzoek reageerden werden vervolgens door de VI benaderd voor een afspraak voor de monstername. Bij deze selectie werd rekening gehouden met de geografische spreiding van de verschillende veehouderijbedrijven over Nederland. Per geselecteerd bedrijf werd ad random één van de aanwezige koppels bemonsterd op basis van de hierna volgende koppeldefinitie: dieren van dezelfde productieleeftijd, gehuisvest in dezelfde stal. Op een melkveebedrijf werden alle aanwezige melkkoeien als één koppel beschouwd.

2.3 Monstername

Volgens de planning dienden circa 1000 bedrijven te worden bemonsterd in een periode van 50 weken. Om een zo goed mogelijke spreiding van de monsternames over het onderzoeksjaar te bewerkstelligen was het uitgangspunt per week 20 koppels te bemonsteren. De monstername werd uitgevoerd door medewerkers van de regionale VI en geschiedde volgens een vast protocol. Afhankelijk van de koppelgrootte werd het aantal mestmonsters bepaald (Tabel 1). De monsters werden met een om de hand gestulpte plastic zak van de grond geraapt, waarbij getracht werd zoveel mogelijk verspreid over de betreffende ruimte verse mest te verzamelen. De monsters werden vervolgens gepooled tot een aantal mengmonsters (Tabel 1), elk van circa 100 g. Via Van Gend en Loos werden de monsters in gekoelde transportboxen naar het RIVM getransporteerd, alwaar binnen 48 uur na monstername met het microbiologisch onderzoek werd begonnen.

Bij ieder bedrijfsbezoek werd door de monsternemer, in overleg met de veehouder, een enquêteformulier voor de betreffende diercategorie ingevuld. Middels deze enquête werd informatie ingewonnen aangaande de bedrijfssituatie, het bemonsterde koppel en de hygiëne op het bedrijf.

2.4 Microbiologisch onderzoek

In de regel werden alle mestmonsters onderzocht op de aanwezigheid van *Salmonella* en *E. coli* O157. Een random selectie van de monsters werd bovendien onderzocht op de aanwezigheid van overige VTEC typen. De aanwezigheid van *Campylobacter* werd alleen bepaald in mestmonsters van vleeskuikens.

2.4.1 *Salmonella*

De aanwezigheid van *Salmonella* spp. werd bepaald volgens een methode die grotendeels overeenkwam met Standard Operating Procedure (SOP) MGB/M124, welke is gebaseerd op de standaard methode van de International Standard Organization (ISO 6579)^{9,17}. Echter in afwijking van SOP MGB/M124 werd géén gebruik gemaakt van seleniet cysteine bouillon als selectief ophopingsmedium en ook niet van bismuth sulfiet agar als selectief isolatiemedium. Deze media zijn speciaal geschikt voor de isolatie van *S. Typhi*, een *Salmonella* type dat bij

landbouwhuisdieren niet voorkomt. Bovendien werd in afwijking van de standaard methode om logistieke redenen per monster slechts één verdachte kolonie bevestigd en nader getypeerd in plaats van vijf. Circa 25 g mest werd overgebracht in 225 ml gebufferd pepton water (BPW). Na 16 tot 20 uur incubatie bij $37 \pm 1^\circ\text{C}$ werd 0,1 ml van de verkregen cultuur overgeënt in 10 ml Rappaport-Vassiliadis (RV) selectief ophopingsmedium. Hiervan werd na 24 ± 2 uur incubatie bij $42 \pm 0,5^\circ\text{C}$ een entoog uitgestreken op briljantgroen-fenolrood-agar (BGA) (eerste uitstrijk). De BGA platen werden na 24 ± 2 uur incubatie bij $37 \pm 1^\circ\text{C}$ afgelezen. Indien de eerste uitstrijk geen verdachte kolonies bevatte werd na een totale incubatietijd van 48 ± 2 uur bij $42 \pm 0,5^\circ\text{C}$ opnieuw een entoog vanuit de RV-cultuur uitgestreken op BGA (tweede uitstrijk). Verdachte kolonies werden biochemisch bevestigd met behulp van ureum agar met triple sugar iron agar en lysine-decarboxylase medium. Sero- en faagtypering van de *Salmonella* isolaten werd uitgevoerd bij het Laboratorium voor Infectieziektendiagnostiek en Screening (LIS) van het RIVM.

Vanaf 1 februari 1998 werd voor de isolatie van *Salmonella* uit mestmonsters afkomstig van pluimvee ook gebruik gemaakt van DIASALM met novobiocine^{23,24}. De DIASALM platen werden beënt met 0,1 ml BPW-cultuur (0,1 ml verdeeld over 3 druppels, in een driehoek). Na 24 ± 2 uur incubatie bij $42 \pm 0,5^\circ\text{C}$ werd materiaal van verdachte platen afgeënt op een BGA plaat. De BGA platen werden 24 ± 2 uur bij $37 \pm 1^\circ\text{C}$ geïncubeerd. Verdachte kolonies (1 per plaat) werden bevestigd en getypeerd zoals hierboven is beschreven. DIASALM platen die na 24 ± 2 uur incubatie bij $42 \pm 0,5^\circ\text{C}$ niet verdacht waren, werden na een totale incubatietijd van 46 tot 50 uur bij $42 \pm 0,5^\circ\text{C}$ opnieuw afgelezen.

2.4.2 *Campylobacter*

De aanwezigheid van *Campylobacter* spp. werd bepaald volgens SOP MGB/M135¹⁸. De mestmonsters werden hiertoe direct afgestreken op Bolton agar. Na 48 ± 4 uur incubatie bij $42 \pm 1^\circ\text{C}$ in een microaërobe atmosfeer werd van karakteristieke kolonies (1 per plaat) een microscopisch preparaat gemaakt. Onder een fasecontrast-microscop zijn *Campylobacter* spp. herkenbaar als beweeglijke spiraalvormige bacteriën. *Campylobacter* isolaten werden bevestigd met een latex-agglutinatie test.

2.4.3 *E. coli* O157

Voor het bepalen van de aanwezigheid van *E. coli* O157 werden alle mengmonsters van één koppel dieren gepooled tot één mestmonster.

E. coli O157 werd geïsoleerd volgens SOP MGB/M517¹⁹. Circa 10 g mest werd overgebracht in een steriele pot met 90 ml gemodificeerde trypton soya bouillon met acriflavine (mTSB+A). De potten werden 6 tot 8 uur geïncubeerd bij $37 \pm 1^\circ\text{C}$ op een schudapparaat (100 rpm), waarna 1 ml van de selectieve ophopingscultuur werd gebruikt voor immunomagnetische scheiding (IMS) van *E. coli* O157. In geval van vleeskalveren en melkkoeien werd de IMS procedure in duplo uitgevoerd vanwege de aard van de mestmonsters. IMS van *E. coli* O157 berust op een selectieve concentrering van *E. coli* O157 kiemen met behulp van magneetbolletjes die zijn gecoat met antilichamen tegen *E. coli* O157. De uiteindelijk verkregen concentraten werden geënt op sorbitol MacConkey agar (SMAC) met cefixime en kaliumtelluriet (CT-SMAC). De platen werden 18 tot 20 uur geïncubeerd bij $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Verdachte kolonies (maximaal 12 per monster) werden overgeënt op SMAC met 4-methylumbelliferyl- β -D-glucuronide (MUG) en op eosine methyleen blauw agar (EMB). De platen werden 18 tot 20 uur bij $37 \pm 1^\circ\text{C}$ geïncubeerd. Kleurloze kolonies op SMAC-MUG

die bij instraling van UV-licht niet fluoresceerden en die tevens op EMB de voor *E. coli* karakteristieke paars-groene metaalachtige glans vertoonden, werden getest met een *E. coli* O157 latex-agglutinatie test. Kolonies die positief reageerden in de latex-agglutinatie test werden opgestuurd naar het LIS voor serotypering. Na bevestiging middels serotypering op het LIS werden de *E. coli* O157 isolaten getest op de aanwezigheid van VT genen (VT1 en VT2) en het *E. coli* attaching and effacing (*eae*) gen door middel van een multiplex PCR¹⁹.

2.4.4 VTEC

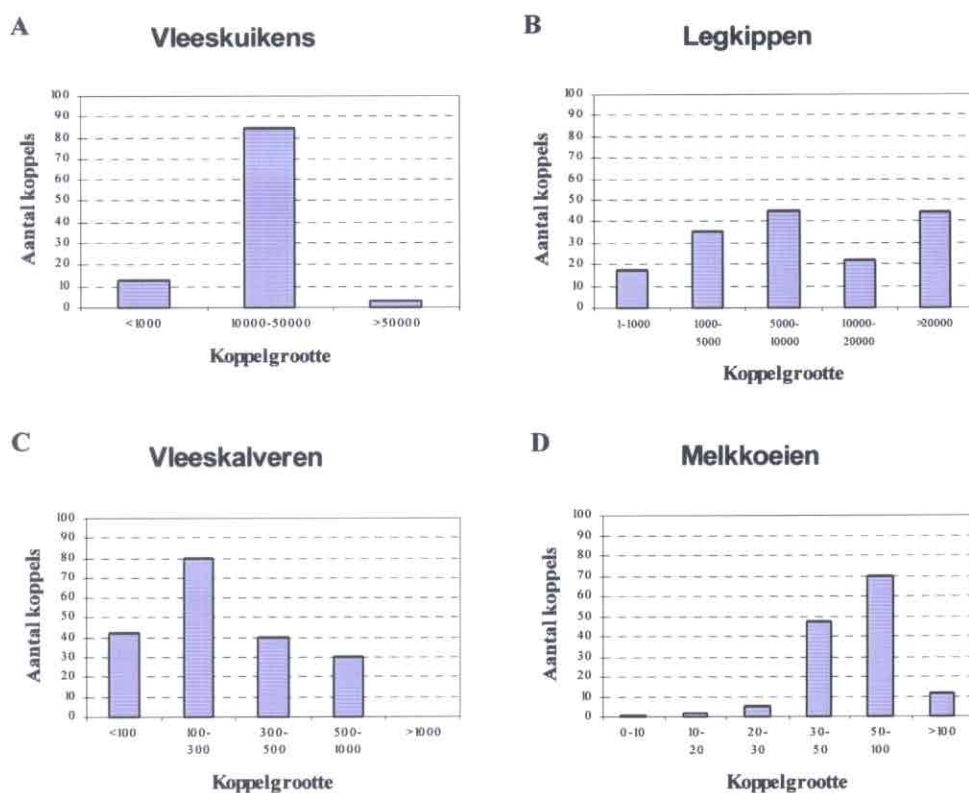
Terwijl met de IMS procedure specifiek de aanwezigheid van *E. coli* O157 werd bepaald, werd met een PCR voor VT genen de aanwezigheid van VTEC in het algemeen (dus onafhankelijk van het serotype) bepaald. Nadat 1 ml uit de mTSB+A cultuur was gepipetteerd voor IMS van *E. coli* O157 werd de incubatie overnacht voortgezet. Na een totale incubatietijd van 20 tot 24 uur werd 0,1 ml van de selectieve verrijkingcultuur bij 5 ml brain heart infusion bouillon (BHI) gepipetteerd en 6 uur bij 37 ± 1 °C geïncubeerd. Eén ml van de BHI-cultuur werd overgebracht in een eppendorfvatje en 5 min gecentrifugeerd bij 14.000 rpm. Het pellet werd geresuspendeerd in 500 µl gedestilleerd water. Vervolgens werd 3 min geïncubeerd bij 100°C, 1 min afgekoeld op ijs en 3 min gecentrifugeerd bij 14.000 rpm. Het supernatant werd 1:10 verdund in gedestilleerd water. Hiervan werd vervolgens 5 µl gebruikt voor de eerder gerefereerde multiplex PCR¹⁹.

2.5 Statistische analyse

Het effect van koppelgrootte, leeftijd (beiden onderverdeeld in categorieën) en seizoen van monstername op de besmetting van landbouwhuisdieren met *Salmonella*, *Campylobacter*, *E. coli* O157 en overige VTEC en de statistische significantie daarvan werd berekend met behulp van logistische regressie. Hiervoor werd gebruik gemaakt van SAS versie 6.12 PROC GENMOD¹⁵. Met dezelfde procedure werd getoetst of er een correlatie bestond tussen het voorkomen van *Salmonella* en het voorkomen van *Campylobacter* in koppels vleeskuikens.

3. Resultaten

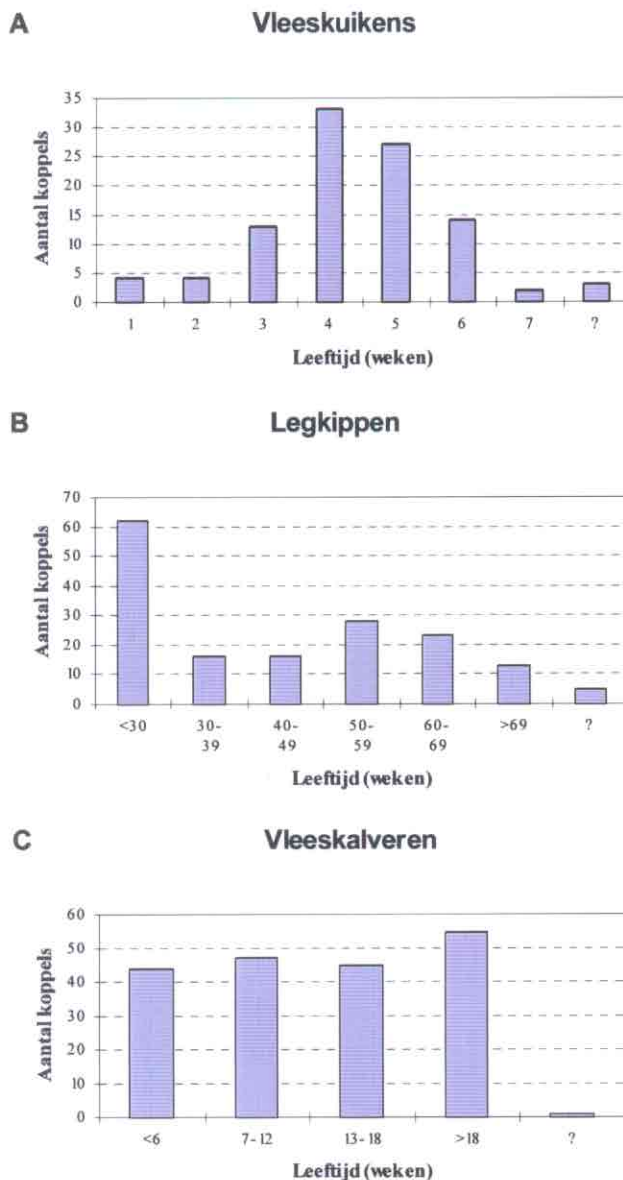
In de periode april 1997 tot en met maart 1998 werden in totaal 591 koppels landbouwhuisdieren bemonsterd: 100 koppels (conform de planning) vleeskuikens, 163 koppels (75,8% van het geplande aantal) legkippen, 192 koppels (70,8%) vleeskalveren en 136 koppels (138,8%) melkkoeien. In totaal werden 2725 (gepoolde) faecesmonsters onderzocht: 500 monsters vleeskuikenfaeces, 809 monsters legkippenfaeces, 845 monsters vleeskalverenfaeces en 571 monsters melkkoeienfaeces. De koppelgrootteverdeling van de bemonsterde koppels landbouwhuisdieren is weergegeven in figuur 1.



Figuur 1. Koppelgrootteverdeling van de bemonsterde koppels vleeskuikens (A), legkippen (B), vleeskalveren (C) en melkkoeien (D).

Figuur 2 toont de leeftijdsverdeling van de bemonsterde koppels vleeskuikens, legkippen en vleeskalveren. Om praktische redenen was in de loop van het surveillance programma besloten met name kuikens van 4, 5 of 6 weken oud te bemonsteren. Verder blijkt de leeftijdsstratificatie bij de selectie van de koppels kalveren goed te zijn uitgekapt. Informatie aangaande de leeftijd van de bemonsterde melkkoeien werd niet verzameld, omdat een koppel melkkoeien altijd is samengesteld uit dieren van uiteenlopende leeftijden. In bijlage 2A t/m 2D is de geografische spreiding van de verschillende typen veehouderijbedrijven over Nederland weergegeven, evenals de geografische spreiding van de bemonsterde koppels landbouwhuisdieren. De geografische spreiding van de bemonsterde koppels legkippen en vleeskalveren blijkt redelijk representatief voor de geografische spreiding van de betreffende veehouderijbedrijven over Nederland. De geografische spreiding van de bemonsterde koppels vleeskuikens en melkkoeien daarentegen blijkt minder representatief. Verder is in bijlage 2A t/m 2D voor vleeskuikens de geografische spreiding van de *Salmonella*- en *Campylobacter*-

positieve koppels weergegeven, voor legkippen de geografische spreiding van de *Salmonella*-positieve koppels en voor vleeskalveren en melkkoeien de geografische spreiding van de VTEC-positieve koppels.



Figuur 2. Leeftijdsverdeling van de bemonsterde koppels vleeskuikens (A), legkippen (B) en vleeskalveren (C).

3.1 *Salmonella*

De prevalentie van *Salmonella* bij de verschillende categorieën landbouwhuisdieren is weergegeven in tabel 2. Het aantal positieve monsters per positief koppel varieerde van 1 van de 5 tot 5 van de 5 mengmonsters (Tabel 3). Voor legkippen werd een statistisch significant ($P=0,01$) verband aangetoond tussen de koppelgrootte (in categorieën) en het voorkomen van *Salmonella*; grotere koppels werden significant vaker positief bevonden dan kleinere koppels. Bij vleeskuikens en legkippen werd *Salmonella* aangetoond in alle leeftijdscategorieën (Bijlage 3, Figuur 1 en 2). Bij vleeskalveren daarentegen werd *Salmonella* uitsluitend aangetoond in

kalveren jonger dan 6 weken (Bijlage 3, Figuur 3). Figuur 3 toont het percentage positieve koppels vleeskuikens, legkippen en vleeskalveren per kwartaal (zie ook Bijlage 4). In het vierde kwartaal van 1997 werden significant ($P < 0,05$) meer koppels legkippen positief bevonden voor *Salmonella* dan in het derde kwartaal.

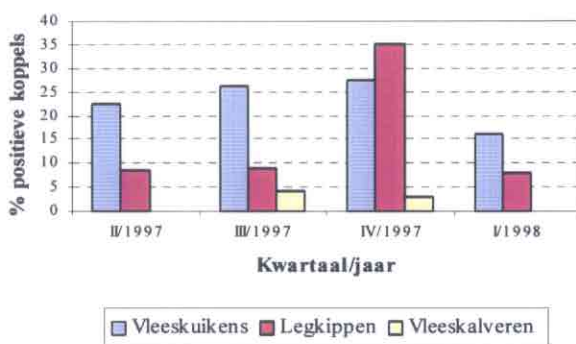
Tabel 2: De prevalentie van *Salmonella* bij koppels vleeskuikens, legkippen, vleeskalveren en melkkoeien.

Diersoort	Aantal koppels positief/aantal koppels bemonsterd (%)		90% BI ^a
Vleeskuikens	22/100	(22,0)	15,5 - 28,6
Legkippen	25/163	(15,3)	10,8 - 19,8
Vleeskalveren	3/192	(1,6)	0,0 - 3,0
Melkkoeien	0/136	(0,0)	

^a BI: betrouwbaarheidsinterval.

Tabel 3: De frequentieverdeling (%) van het aantal positieve mengmonsters per koppel vleeskuikens, legkippen en vleeskalveren dat positief was voor *Salmonella*.

Diersoort	Aantal mengmonsters positief / totaal aantal mengmonsters					Totaal
	1/5	2/5	3/5	4/5	5/5	
Vleeskuikens	4 (18,2)	6 (27,3)	2 (9,1)	2 (9,1)	8 (36,4)	22
Legkippen	10 (40,0)	3 (12,0)	3 (12,0)	5 (20,0)	4 (16,0)	25
Vleeskalveren	2 (66,7)	1 (33,3)				3



Figuur 3. Het percentage *Salmonella*-positieve koppels vleeskuikens ($n=22$), legkippen ($n=25$) en vleeskalveren ($n=3$) per kwartaal.

Uit de 22 positieve koppels vleeskuikens werden in totaal 70 *Salmonella* stammen geïsoleerd, waarvan 61 behoorden tot 13 verschillende *Salmonella* serotypen en 9 niet typeerbaar bleken (Bijlage 5A). *S. Infantis* werd het meest frequent geïsoleerd: uit 6 van de 22 positieve koppels vleeskuikens. Bij het overgrote deel (83,3%) van de koppels vleeskuikens waarvan meer dan één mengmonster positief werd bevonden, werd uit de verschillende monsters van het koppel hetzelfde type *Salmonella* geïsoleerd.

Uit de 25 positieve koppels legkippen werden in totaal 65 *Salmonella* stammen geïsoleerd, waarvan 59 behoorden tot 13 verschillende *Salmonella* sero- of sero-/faagtypen en

6 niet typeerbaar bleken (Bijlage 5B). *S. Enteritidis* en *S. Infantis* werden het meest frequent geïsoleerd: uit respectievelijk 9 en 6 van de 25 positieve koppels legkippen. Bij het merendeel (66,7%) van de koppels legkippen waarvan meer dan één mengmonster positief werd bevonden, werd uit de verschillende monsters van het koppel hetzelfde type *Salmonella* geïsoleerd. In totaal werd *S. Enteritidis* geïsoleerd uit 5,5% van de koppels legkippen en uit 1,0% van de koppels vleeskuikens. Opmerkelijk is dat bij het bemonsterde pluimvee géén *S. Typhimurium* werd gevonden.

Uit 2 van de 3 positieve koppels vleeskalveren werd *S. Typhimurium* faagtype 506 (*S. Typhimurium* DT 104) geïsoleerd (Bijlage 5C). Uit het derde positieve koppel vleeskalveren werd *S. Dublin* geïsoleerd.

Een totaaloverzicht van de frequentie waarin de verschillende typen *Salmonella* werden geïsoleerd is weergegeven in tabel 4.

Tabel 4: De frequentie van de verschillende typen *Salmonella* in koppels vleeskuikens, legkippen en vleeskalveren.

<i>Salmonella</i> serotype / Nederlands faagtype	Aantal positieve koppels		
	Vleeskuikens (n=22)	Legkippen (n=25)	Vleeskalveren (n=3)
<i>S. Enteritidis</i>			
faagtype 1	1	3	
faagtype 12		2	
faagtype n.t. ^a		2	
faagtype a.r. ^b		2	
<i>S. Virchow</i>		1	
<i>S. Livingstone</i>	2	1	
<i>S. Mbandaka</i>	1	3	
<i>S. Infantis</i>	6	6	
<i>S. Hadar</i>	1		
<i>S. Paratyphi B</i> var. Java	3		
<i>S. Oranienburg</i>	1		
<i>S. Indiana</i>	2		
<i>S. Heidelberg</i>	1		
<i>S. Rissen</i>	1	2	
<i>S. Braenderup</i>		4	
<i>S. Agona</i>		1	
<i>S. Tennessee</i>	1		
<i>S. Manhattan</i>	1		
<i>S. Montevideo</i>	1		
<i>S. Dublin</i>			1
<i>S. Kentucky</i>		1	
<i>S. Bareilly</i>		2	
<i>S. Typhimurium</i> faagtype 506			2
<i>Salmonella</i> n.t.	3	3	

^a n.t.: niet typeerbaar

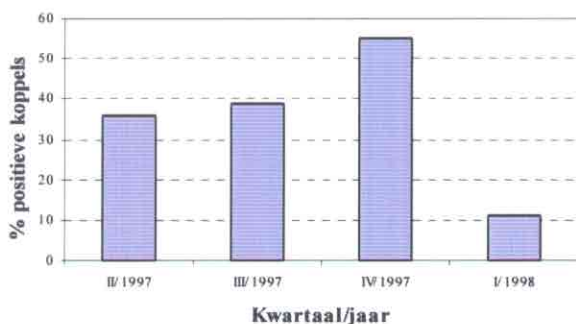
^b a.r.: atypisch reagerend

In de periode april 1997 tot en met januari 1998 werd *Salmonella* geïsoleerd volgens de RV-BGA-methode. Vanaf 1 februari 1998 werden mestmonsters afkomstig van pluimvee onderzocht op het voorkomen van *Salmonella* volgens zowel de RV-BGA-methode als de DIASALM-methode. Koppels vleeskuikens en legkippen die met de RV-BGA-methode positief werden bevonden, werden ook met de DIASALM-methode positief bevonden en andersom (zie Bijlage 5A en 5B). Het aantal positieve monsters per positief koppel liep echter niet altijd parallel voor beide isolatiemethoden; voor 3 van de 7 positieve koppels pluimvee gold dat met de DIASALM-methode uit méér monsters *Salmonella* werd geïsoleerd dan met de RV-BGA-methode, voor 1 koppel gold het omgekeerde en voor de overige 3 koppels gold dat beide methoden een gelijk aantal positieve monsters scoorden (zie Bijlage 5A en 5B). Gezien het geringe aantal *Salmonella*-positieve koppels in de periode februari tot en met maart 1998 kan géén uitspraak worden gedaan over de effectiviteit van de DIASALM-methode ten opzichte van de RV-BGA-methode.

3.2 *Campylobacter*

De prevalentie van *Campylobacter* bij vleeskuikens ($n=84$ koppels) was 29,8% (90% BI: 21,9-37,7). Bij 23 (92,0%) van de 25 positieve koppels werd uit alle 5 mengmonsters van het koppel *Campylobacter* geïsoleerd. Bij de overige 2 positieve koppels werden respectievelijk 2 en 3 van de 5 mengmonsters positief bevonden. Er werd een statistisch significant ($P=0,001$) verband aangetoond tussen de leeftijd van de vleeskuikens en het vóórkomen van *Campylobacter*; oudere koppels vleeskuikens werden statistisch significant vaker positief bevonden dan jongere koppels (Bijlage 3, figuur 1). Het percentage positieve koppels vleeskuikens per kwartaal is weergegeven in figuur 4 (zie ook Bijlage 4). Het percentage positieve koppels bleek in het eerste kwartaal van 1998 statistisch significant ($P<0,05$) lager dan in het tweede, derde en vierde kwartaal van 1997.

Er werd een positieve correlatie waargenomen tussen het voorkomen van *Campylobacter* en *Salmonella* binnen een koppel vleeskuikens; *Campylobacter*-vrije koppels werden vaak ook *Salmonella*-vrij bevonden en *Campylobacter*-positieve koppels werden vaak ook *Salmonella*-positief bevonden. Dit verband werd echter niet statistisch significant bevonden ($P>0,10$).



Figuur 4. Het percentage *Campylobacter*-positieve koppels vleeskuikens ($n=25$) per kwartaal.

3.3 *E. coli* O157

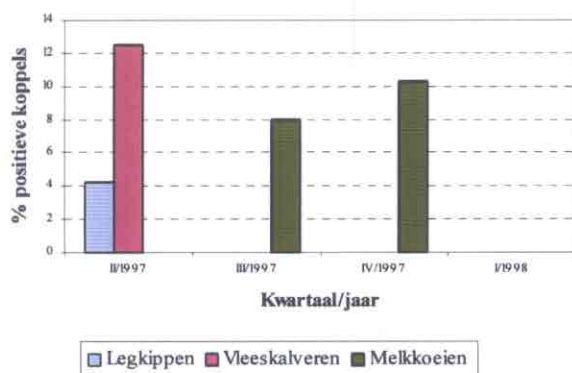
De prevalentie van *E. coli* O157 bij de verschillende categorieën landbouwhuisdieren is weergegeven in tabel 5. De leeftijden van de positieve koppels legkippen en vleeskalveren zijn weergegeven in Bijlage 3, figuur 2 en 3. Figuur 5 toont het percentage positieve koppels legkippen, vleeskalveren en melkkoeien per kwartaal (zie ook Bijlage 4).

De PCR resultaten van de *E. coli* O157 isolaten zijn samengevat in tabel 6. Eén van de 6 isolaten uit melkkoeien bleek negatief te zijn voor zowel het VT1, VT2 als het *eae* gen.

Tabel 5: De prevalentie van *E. coli* O157 bij vleeskuikens, legkippen, vleeskalveren en melkkoeien.

Diersoort	Aantal koppels positief/aantal koppels bemonsterd (%)		90% BI ^a
Vleeskuikens	0/100	(0,0)	
Legkippen	1/163	(0,6)	0,0 - 1,6
Vleeskalveren	3/191	(1,6)	0,0 - 3,0
Melkkoeien	6/136	(4,4)	1,5 - 7,3

^a BI, betrouwbaarheidsinterval.



Figuur 5. Het percentage *E. coli* O157-positieve koppels legkippen ($n=1$), vleeskalveren ($n=3$) en melkkoeien ($n=6$) per kwartaal.

Table 6: De PCR resultaten van de *E. coli* O157 isolaten.

Positieve PCR voor:	Diersoort		
	Legkippen	Vleeskalveren	Melkkoeien
VT2+ <i>eae</i>		2	4
VT1+VT2+ <i>eae</i>	1	1	1
Totaal aantal <i>E. coli</i> O157 isolaten	1	3	6 ^a

^a Eén van de 6 *E. coli* O157 isolaten uit melkkoeien bleek negatief te zijn voor zowel het VT1, VT2 als het *eae* gen.

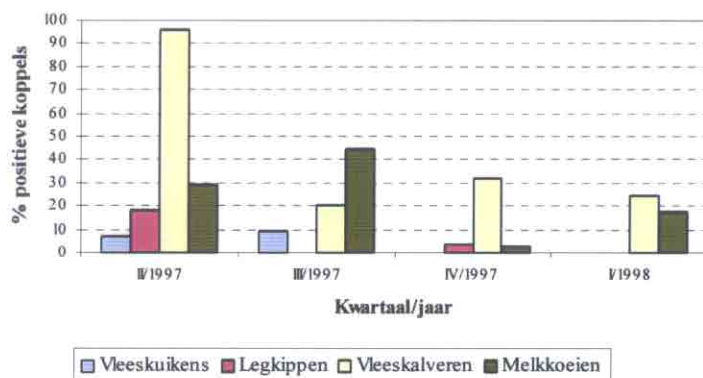
3.4 VTEC

De prevalentie van VTEC bij de verschillende categorieën landbouwhuisdieren is weergegeven in tabel 7. De leeftijden van de positieve koppels vleeskuikens, legkippen en vleeskalveren zijn weergegeven in Bijlage 3, figuur 1, 2 en 3. Figuur 6 toont het percentage positieve koppels vleeskuikens, legkippen, vleeskalveren en melkkoeien per kwartaal (zie ook Bijlage 4). In het tweede kwartaal van 1997 werd een statistisch significant ($P < 0,05$) hoger percentage koppels vleeskalveren positief bevonden dan in het derde en vierde kwartaal van 1997 en het eerste kwartaal van 1998. Het percentage positieve koppels melkkoeien in het vierde kwartaal van 1997 was statistisch significant lager ($P < 0,05$) dan in het tweede en derde kwartaal van dat jaar.

Tabel 7: Het voorkomen van VTEC in landbouwhuisdieren.

Diersoort	Aantal koppels positief/aantal koppels bemonsterd (%)		90% BI ^a
Vleeskuikens	2/68	(3,2)	0,0 - 6,8
Legkippen	5/114	(4,4)	1,3 - 7,5
Vleeskalveren	45/111	(40,5)	33,0 - 48,0
Melkkoeien	16/93	(17,2)	10,8 - 23,6

^a BI, betrouwbaarheidsinterval.



Figuur 6. Het percentage VTEC-positieve koppels vleeskuikens ($n=2$), legkippen ($n=5$), vleeskalveren ($n=45$) en melkkoeien ($n=16$) per kwartaal.

De PCR resultaten van de positieve BHI-ophopingscultures zijn samengevat in tabel 8. De 10 mestmonsters waaruit met behulp van de IMS methode *E. coli* O157 stammen werden geïsoleerd, werden middels de directe PCR-detectie negatief bevonden, met uitzondering van 2 van de 3 *E. coli* O157-positieve monsters vleeskalverenfaeces. Terwijl de *E. coli* O157 isolaten uit deze twee kalvermestmonsters positief waren voor respectievelijk VT1/VT2/*eae* en VT2/*eae*, werd middels directe PCR-detectie van VT en *eae* genen in de beide BHI-ophopingscultures uitsluitend een positief signaal verkregen voor het VT2 gen.

Table 8: De PCR resultaten van de BHI-ophoppingen van VTEC-positieve faecesmonsters.

Positieve PCR voor:	Diersoort			
	Vleeskuikens	Legkippen	Vleeskalveren	Melkkoeien
VT1			15	4
VT2	1	3	13	7
VT1+VT2			2	4
VT1+ <i>eae</i>			6	
VT2+ <i>eae</i>	1	2	2	
VT1+VT2+ <i>eae</i>			7	1
Totaal	2	5	45	16

4. Discussie

In het huidige onderzoek werden *Salmonella* spp. geïsoleerd uit 22,0% van de 100 koppels vleeskuikens, uit 15,3% van de 163 koppels legkippen en uit 1,6% van de 192 koppels vleeskalveren. Van de koppels legkippen was 5,5% positief voor *S. Enteritidis*.

Naar aanleiding van de nationale en wereldwijde toename van *S. Enteritidis*-infecties bij de mens eind tachtiger jaren en de epidemiologische associatie van deze infecties met de consumptie van eieren, werd in maart 1989 een nationaal bewakings- en bestrijdingsprogramma voor *S. Enteritidis* in de pluimveereproductiesector (fok- en vermeerderingskoppels kippen in de leg- en vleessector) geïmplementeerd. Doel van dit programma was de systematische opsporing en eliminatie van *S. Enteritidis*-positieve reproductiekoppels, teneinde verticale transmissie van *S. Enteritidis* naar de leg- en vleeseindsectoren (koppels legkippen en vleeskuikens) te voorkomen, terwijl horizontale besmetting van koppels pluimvee vanuit het milieu diende te worden voorkomen middels de toepassing van "good hygiene practices". Deze maatregelen hebben er toe geleid dat de besmetting met *S. Enteritidis* bij fok- en vermeerderingskoppels in de legsector is teruggebracht tot een minimaal niveau (TS de Vries, GD Deventer, mondelinge communicatie). Deze reductie blijkt echter geen substantieel effect te hebben gehad op de *S. Enteritidis* besmetting in de legeindsector. In 1989 werd *S. Enteritidis* geïsoleerd uit 17,6% van de koppels legkippen⁴, en onderzoeksresultaten van Van de Giessen in 1992/1993³ en van de GD in 1997/1998 (TS de Vries, GD Deventer, mondelinge communicatie) hebben aangetoond dat in de afgelopen 5 jaar circa 10 tot 15% van de Nederlandse koppels legkippen besmet was met *S. Enteritidis*. Eind 1997 werd door het PVE dan ook een Plan van Aanpak *Salmonella* in de eiersector gelanceerd¹³. Deze aanpak is gebaseerd op een uitgebreid monitoringsprogramma en hygiënemaatregelen in de gehele legproductieketen met als doel het percentage *S. Enteritidis*- en *S. Typhimurium*-besmette koppels legkippen binnen 3 jaar terug te dringen tot <5%.

In de huidige studie werd bij legkippen een besmettingspercentage voor *S. Enteritidis* van 5,5% (op koppelniveau) bepaald. Een mogelijke verklaring voor het hogere percentage *S. Enteritidis*-positieve koppels legkippen dat in 1997/1998 door de GD werd bepaald in verband met het Plan van Aanpak, ligt in het feit dat door de GD serologisch onderzoek van koppels legkippen plaatsvond op circa 6 weken voor de slacht, terwijl in het hier beschreven onderzoek zowel jonge als oudere koppels legkippen bacteriologisch werden onderzocht. Alhoewel op grond van de in dit rapport beschreven resultaten géén uitspraak kan worden gedaan over de effectiviteit van het gebruik van de DIASALM-methode ten opzichte van de RV-methode, wijzen de meest recente resultaten van het surveillance programma uit dat met de DIASALM-methode aanzienlijk méér koppels pluimvee positief worden bevonden voor *Salmonella* dan met de RV-methode. Wellicht is het hier gegeven percentage *S. Enteritidis*-besmette koppels legkippen (5,5%) dan ook een onderschatting van het werkelijke besmettingspercentage.

Van de koppels vleeskuikens (n=100) werd 22,0% positief voor *Salmonella* bevonden. In 1992/1993 werd bij bemonstering aan de slachtlijn een besmettingspercentage van 27% (op koppelniveau, n=181) bepaald¹⁰. In 1989 werd voor vleeskuikens nog een besmettingspercentage van 94% (op koppelniveau, n=52; monsternamen op de slachterij) bepaald⁴. In 1997 werd ook in de vleessector door het PVE een Plan van Aanpak gelanceerd gericht op zowel *Salmonella* (alle typen) als *Campylobacter*¹⁴. De belangrijkste onderdelen van dit plan zijn (1) verplicht hygiënemanagement voor de hele productieketen (inclusief slachterijen) en logistieke maatregelen, (2) verplichte reiniging en desinfectie van stallen na ruiming van dieren, (3) in- en uitgangsontrole voor iedere schakel, (4) informatieoverdracht

tussen de schakels en (5) corrigerende maatregelen bij besmetting. Het doel van deze aanpak is binnen 2,5 jaar te komen tot terugdringing van de infectiegraad van pluimveevlees (direct na het slachten/uitsnijden) tot <10% van de koppels voor *Salmonella* en <15% van de koppels voor *Campylobacter*. Onlangs is de eerste tussenrapportage verschenen. Gemiddeld werd in de periode mei tot en met december 1997 circa 25% van de koppels vleeskuikens positief bevonden voor *Salmonella*²⁰. Dit percentage komt goed overeen met het besmettingspercentage bepaald in het huidige onderzoek.

De meest frequent uit pluimvee geïsoleerde *Salmonella* serotypen waren *S. Enteritidis* en *S. Infantis*. *S. Enteritidis* werd geïsoleerd uit 36,0% van de 25 positieve koppels legkippen. *S. Infantis* werd geïsoleerd uit 24,0% van de 25 positieve koppels legkippen en uit 27,3% van de 22 positieve koppels vleeskuikens. In 1997 betrof respectievelijk 45,5 en 2,3% van de ingezonden humane *Salmonella* isolaten *S. Enteritidis* en *S. Infantis*. Hiermee was *S. Infantis* in 1997 na *S. Enteritidis* en *S. Typhimurium* (30,7%) het meest frequent geïsoleerde type *Salmonella* uit de mens.

Campylobacter spp. werden geïsoleerd uit 29,8% van de koppels vleeskuikens. In de eerste tussenrapportage (mei-december) van het PVE onderzoek wordt een vergelijkbaar besmettingspercentage vermeld; gemiddeld werd circa 22% van de koppels vleeskuikens positief bevonden voor *Campylobacter*²⁰. Tijdens een onderzoek uitgevoerd in de periode maart 1992 tot maart 1993 bleek 82% van de onderzochte koppels ($n=187$) Nederlandse vleeskuikens aan de slachtlijn besmet te zijn met *Campylobacter*¹⁰. Besmettingspercentages binnen de koppels varieerden van 50 tot 100%. Het hogere besmettingspercentage waargenomen bij bemonstering aan de slachtlijn spoort met de bevindingen van het huidige onderzoek dat oudere koppels vleeskuikens vaker positief zijn dan jongere koppels. Tijdens het onderzoek aan de slachtlijn werd een duidelijk seizoenseffect waargenomen; het percentage besmette koppels bleek het hoogst in de periode juni tot september (100%) en het laagst (50%) in maart. In de huidige studie werd een piek in het vierde kwartaal waargenomen; 44% van de 25 positieve koppels werd gedetecteerd in de periode oktober tot en met december. Verder werd in de gerefereerde studie, evenals in de hier beschreven studie, een positieve correlatie waargenomen tussen het voorkomen van *Campylobacter* en *Salmonella* bij koppels vleeskuikens. Tijdens de continuering van het surveillance programma zal blijken in hoeverre de isolaten uit vleeskuikens humaanpathogene *C. jejuni* en *C. coli* betreffen.

Overeenkomstig de literatuur is ook tijdens het huidige onderzoek gebleken dat rundvee de belangrijkste bron van O157 en overige VTEC stammen is. *E. coli* O157 werd geïsoleerd uit 4,4% van de onderzochte koppels melkkoeien en uit 1,6% van de koppels vleeskalveren. Slechts éénmaal werden *E. coli* O157 stammen geïsoleerd uit een koppel legkippen. Bij herbemonstering van dit koppel werden de pathogenen echter niet meer aangetoond. Tijdens eerder onderzoek, uitgevoerd in de maanden juli tot en met oktober van 1995 en 1996, bleek 10% van de onderzochte Nederlandse melkkoeien ($n=540$) en 0,5% van de onderzochte Nederlandse vleeskalveren ($n=397$) bij het slachten besmet te zijn met *E. coli* O157⁶. Bij onderzoek naar het voorkomen en de verspreiding van *E. coli* O157 op Nederlandse melkveebedrijven ($n=10$) bleek het percentage besmette runderen op de bedrijven te variëren van 0 tot 61,0%⁷. In dat onderzoek werden kalveren vaker positief bevonden dan volwassen runderen. Behalve een leeftijdseffect werd ook een seizoenseffect waargenomen. De excretie van *E. coli* O157 piekte in de zomer en was het laagst in de winter⁷.

Alle *E. coli* O157 isolaten uit het huidige onderzoek met uitzondering van één waren in het bezit van één of beide VT genen en het *eae* gen, de twee belangrijkste virulentiekenmerken. Op grond hiervan kunnen de isolaten worden beschouwd als potentieel humaanpathogeen. Verder werd met behulp van de PCR 40,5% van de koppels vleeskalveren,

17,2% van de koppels melkkoeien en slechts 4,4% van de koppels legkippen en 3,2% van de koppels vleeskuikens positief bevonden voor VTEC. De betekenis voor de volksgezondheid van het grote aantal positieve koppels vleeskalveren en melkkoeien is niet bekend. Hiervoor is het noodzakelijk dat eerst meer inzicht wordt verkregen in de verschillende VTEC serotypen die bij de mens ziekte kunnen veroorzaken. Niet alle koppels waaruit met behulp van de IMS-methode *E. coli* O157 werd geïsoleerd werden met de PCR positief bevonden voor VTEC. Aangezien de incubatietijd van de selectieve ophoping bij de gebruikte PCR-methode driemaal langer is dan bij de IMS-methode, zou dit resultaat kunnen betekenen dat *E. coli* O157 veelal in zeer lage aantallen aanwezig is in de runderfaeces en in de ophopingscultuur gemakkelijk wordt overgroeid door andere bacteriën.

Concluderend kan worden gesteld dat pluimvee nog steeds een belangrijk reservoir is van *Salmonella* en *Campylobacter* spp. De surveillance resultaten van de komende jaren zullen moeten uitwijzen in hoeverre het Plan van Aanpak Salmonella en Campylobacter zijn vruchten begint af te werpen. Rundvee kan worden beschouwd als een belangrijk reservoir van *E. coli* O157 en overige typen VTEC. Gezien het veelvuldig voorkomen van verschillende typen VTEC in runderen is meer inzicht vereist in de rol van deze typen in het veroorzaken van gastro-enteritis bij de mens.

In de toekomst zullen mogelijk ook andere bacteriële zoönoseverwekkers alsmede parasitaire en virale zoönoseverwekkers in het surveillance programma worden opgenomen. Inmiddels is een selectie van de monsters al onderzocht op de aanwezigheid van *Cryptosporidium* en *Giardia* spp. Voor de resultaten van dit onderzoek wordt verwezen naar het RIVM-rapport "Emissie van *Cryptosporidium* en *Giardia* door landbouwhuisdieren"¹⁶. Gezien de toenemende resistentieproblematiek zijn inmiddels ook resistentiebepalingen van bacteriële isolaten in het onderzoek opgenomen. Deze surveillance van zoönoseverwekkers bij landbouwhuisdieren levert in toenemende mate nuttige gegevens op en voortzetting hiervan verdient dan ook aanbeveling.

Literatuurlijst

1. Boer E de, Zwartkruis A, Biggelaar C van de. *Salmonella* en *Escherichia coli* O157 in onverhit vlees. De Ware(n)chemicus 1997;27:115-118.
2. Esveld MI, Pelt W van, Leeuwen WJ van, Bänffer JRJ. Laboratorium Surveillance Infectieziekten - 1989-1995. Bilthoven: RIVM; 1996 juni. Rapport nr.: 968902002.
3. Giessen AW van de. Epidemiology and control of *Salmonella enteritidis* and *Campylobacter* spp. in poultry flocks (proefschrift). Utrecht: Universiteit Utrecht, 1996.
4. Giessen AW van de, Peters R, Berkers PATA, Jansen WH, Notermans SHW. *Salmonella* contamination of poultry flocks in the Netherlands. The Veterinary Quarterly 1991;13:41-46.
5. Giessen AW van de, Tilburg JJHC, Ritmeester WS, Plas J van der. Reduction of *Campylobacter* infections in broiler flocks by application of hygiene measures. Epidemiol Infect 1998;121:57-66.
6. Heuvelink AE, Biggelaar FLAM van den, Boer E de, Herbes RG, Melchers WJG, Huis in 't Veld JHJ, Monnens LAH. Isolation and characterization of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 strains from dutch cattle and sheep. J Clin Microbiol 1998a; 36:878-882.
7. Heuvelink AE, Biggelaar FLAM van den, Zwartkruis-Nahuis JTM, Herbes RG, Huyben R, Nagelkerke N, Melchers WJG, Monnens LAH, Boer E de. Occurrence of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 on dutch dairy farms. J Clin Microbiol 1998b;36:3480-3487.
8. Hoogenboom-Verdegaal AMM, During M, Engels GB *et al.* Een bevolkingsonderzoek naar maag/darmklachten in vier regio's van Nederland uitgevoerd in 1991. Deel 1. Onderzoeksmethodiek en incidentieberekening gastro-enteritis. Bilthoven: RIVM; 1992. Rapport nr.: 149101001.
9. International Standard Organization (ISO) Microbiology - General guidance on methods for the detection of *Salmonella* (ISO 6579). Third edition 1993-09-01.
10. Jacobs-Reitsma WF. Epidemiology of *Campylobacter* in poultry (proefschrift). Wageningen: Landbouwniversiteit, 1994.
11. Kar NJAC van de, Heuvelink AE, Boer E de, Monnens LAH. Infections with verocytotoxin-producing *Escherichia coli* and hemolytic-uremic syndrome. Ned Tijdschr Geneesk 1996;140:134-137.
12. Mourits MCM, Henken AM, Frankena K, Notermans SHW, Giessen AW van de. Guidelines for the determination of *Salmonella* prevalence in farm animal populations. Bilthoven/Wageningen: RIVM/LUW; 1995. Rapport nr.: 284500 001.
13. Productschappen Vee, Vlees en Eieren. Plan van aanpak preventie en bestrijding *Salmonella* in de eiersector. Rijswijk: PVE, 1997a.
14. Productschappen Vee, Vlees en Eieren. Plan van aanpak *Salmonella* en *Campylobacter* in de pluimveevleessector. Rijswijk: PVE, 1997b.
15. SAS Institute Inc., *SAS/STAT*[®] Software: Changes and enhancements through release 6.12, Cary, NC: SAS Institute Inc., 1997. 1167p.
16. Schijven JF, Bruin HAM de, Engels GB, Leenen EJTM. Emissie van *Cryptosporidium* en *Giardia* door landbouwhuisdieren. Bilthoven: RIVM; 1999 (in concept gereed). Rapport nr.: 289202 023.
17. Standard Operating Procedure MGB/M124. Bepaling van de aan- of afwezigheid van *Salmonella* in een bepaalde hoeveelheid van levensmiddelen, diervoeders, destructiemateriaal en faeces van dierlijke oorsprong. Datum 97/03/20.
18. Standard Operating Procedure MGB/M135. Onderzoek op de aanwezigheid van

- thermofiele *Campylobacter* spp. in animale faeces. Datum 97/09/01.
19. Standard Operating Procedure MGB/M517. Bepaling van de aan- of afwezigheid van *E. coli* O157 in een bepaalde hoeveelheid levensmiddelen en faeces van dierlijke oorsprong. Datum 98/05/11.
 20. Westendorp MC, Rang H. Plan van Aanpak Vleeskuikensector – Op de goede weg. Pluimveehouderij 1998;28:8-9.
 21. Wit MAS de, Hoogenboom-Verdegaal AMM, Goosen ESM, Sprenger MJW, Borgdorff MW. Een bevolkingsonderzoek in vier regio's in Nederland naar incidentie en ziektelast van gastro-enteritis en van *Campylobacter*- en *Salmonella*-infectie. Bilthoven: RIVM; 1996 januari. Rapport nr.: 149101014.
 22. Wit MAS de, Kortbeek LM, Leeuwen WJ van, Koopmans MPG, Vinjé J, Bartelds AIM, Conyn-van Spaendonck MAE. Interim-rapportage van onderzoek naar gastro-enteritis in huisartsenpeilstations (NIVEL) 1996-1997. Resultaten van het eerste jaar. Bilthoven: RIVM; 1998 januari. Rapport nr.: 216852002.
 23. Zee H van der. Conventional methods for the detection and isolation of *Salmonella enteritis*. Int. J. Food Microbiol. 1994;21:41-46.
 24. Zee H van der, Netten P van. Improved isolation of *Salmonella enteritidis* from poultry by the use of a semi-solid diagnostic *Salmonella* medium. Waren(n)-Chemicus 1991;21:180-189.
 25. Zoönosen en zoönoseverwekkers Nederland, Juli 1996, Ministeries VWS en LNV.

Bijlage 1A Primaire steekproefgrootten

Kengetallen van bedrijven zijn ontleend aan het rapport "Zoönosen en zoönoseverwekkers Nederland, Juli 1996"²⁵.

Vleeskuikens

Aantal bedrijven met vleeskuikens:	1.301
Gemiddeld aantal stallen per bedrijf:	1,8
Aantal koppels per stal per jaar:	6
Aantal koppels vleeskuikens per jaar:	14.051
Verwachte prevalentie <i>Salmonella</i> :	onbekend; gesteld op 50%
Verwachte prevalentie <i>Campylobacter</i> :	onbekend; gesteld op 50%
Verwachte prevalentie <i>E. coli</i> O157:	<10%
Gewenste betrouwbaarheid schatting:	90%
Gewenste nauwkeurigheid schatting:	± 5%
Aantal te bemonsteren koppels:	271*

*Om logistieke redenen beperkt tot 100.

Bijlage 1B Primaire steekproefgrootten

Kengetallen van bedrijven zijn ontleend aan het rapport "Zoönosen en zoönoseverwekkers Nederland, Juli 1996"²⁵.

Legkippen

Aantal bedrijven met legkippen :	2.488
Gemiddeld aantal stallen per bedrijf:	1,5
Aantal koppels per stal per jaar:	1
Aantal koppels legkippen per jaar:	3.732
Verwachte prevalentie <i>Salmonella</i> :	30%
Verwachte prevalentie <i>E. coli</i> O157:	<10%
Gewenste betrouwbaarheid schatting:	90%
Gewenste nauwkeurigheid schatting:	± 5%
Aantal te bemonsteren koppels:	215

Bijlage 1C Primaire steekproefgrootten

Kengetallen van bedrijven zijn ontleend aan het rapport "Zoönosen en zoönoseverwekkers Nederland, Juli 1996"²⁵ en aan de door SKV verstrekte opgaven.

Vleeskalveren

Aantal bedrijven met vleeskalveren:	2.334
Schatting gemiddeld aantal stallen per bedrijf	3
Schatting aantal productieronden per jaar:	2,2
Aantal koppels vleeskalveren per jaar:	14.765
Verwachte prevalentie <i>Salmonella</i> :	onbekend; gesteld op 50%
Verwachte prevalentie <i>E. coli</i> O157:	10%
Gewenste betrouwbaarheid schatting:	90%
Gewenste nauwkeurigheid schatting:	± 5%
Aantal te bemonsteren koppels:	271

Stratificatie vleeskalverbedrijven*:

Bedrijfs grootte	Aantal vleeskalveren bedrijven	% van de populatie	Aantal te bemonsteren koppels
0 - 100	596	4,1	11
100 - 300	703	17,3	47
300 - 500	521	25,9	70
500 - 1.000	549	40,8	111
> 1.000	75	11,9	32
Totaal	2444	100,0	271

*Aantallen te bemonsteren koppels worden evenredig verdeeld over vier leeftijdscategorieën (categorieën 0-6, 7-12, 13-18 en ≥19 weken oud).

Bijlage 1D Primaire steekproefgrootten

Kengetallen van bedrijven zijn ontleend aan het rapport "Zoönosen en zoönoseverwekkers Nederland, Juli 1996"²⁵.

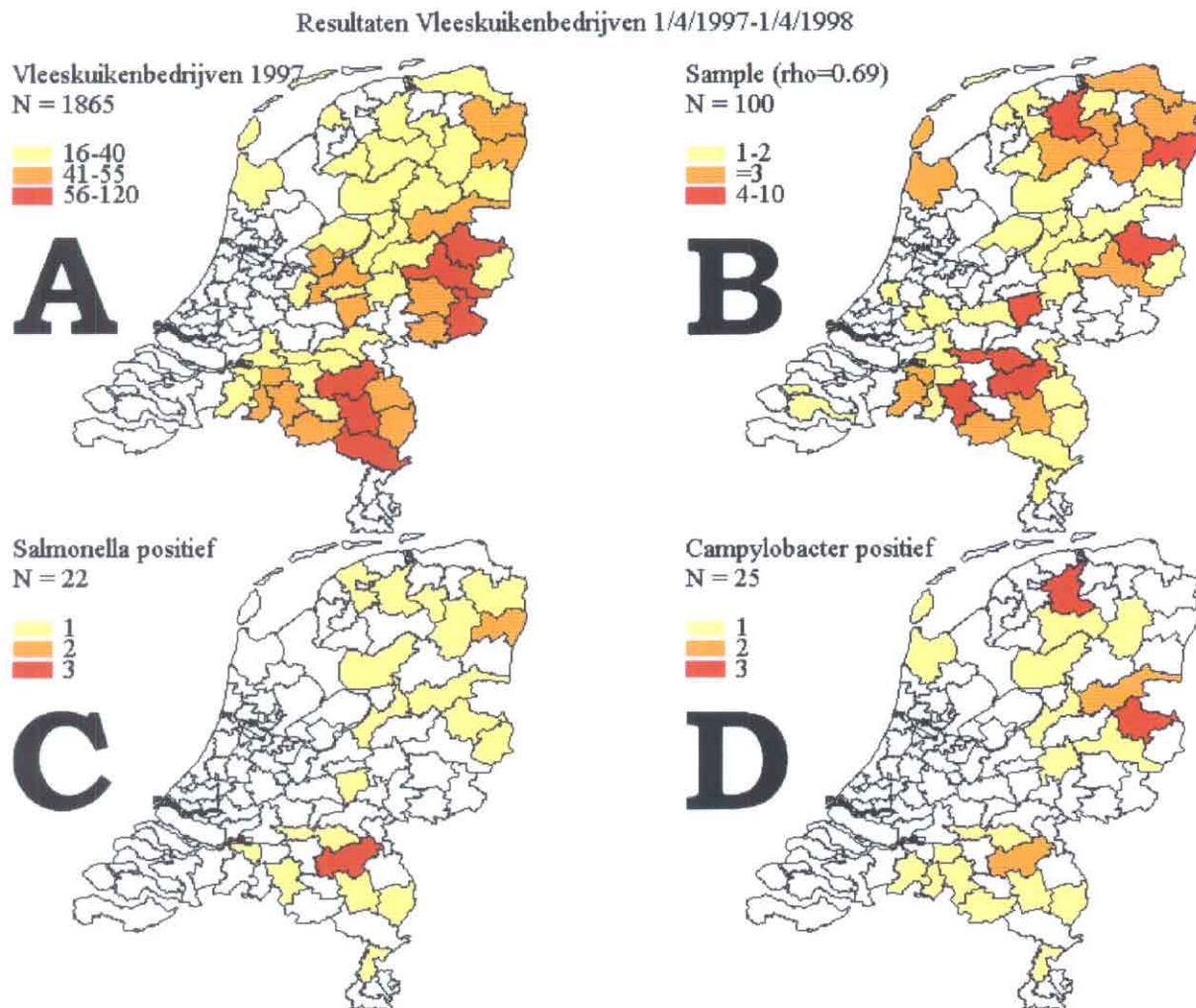
Melkkoeien

Aantal bedrijven met melkkoeien:	37.465
Aantal koppels melkkoeien per jaar:	37.465
Verwachte prevalentie <i>Salmonella</i> :	10%
Verwachte prevalentie <i>E. coli</i> O157:	10%
Gewenste betrouwbaarheid schatting:	90%
Gewenste nauwkeurigheid schatting:	± 5%
Aantal te bemonsteren koppels:	98

Stratificatie melkveebedrijven:

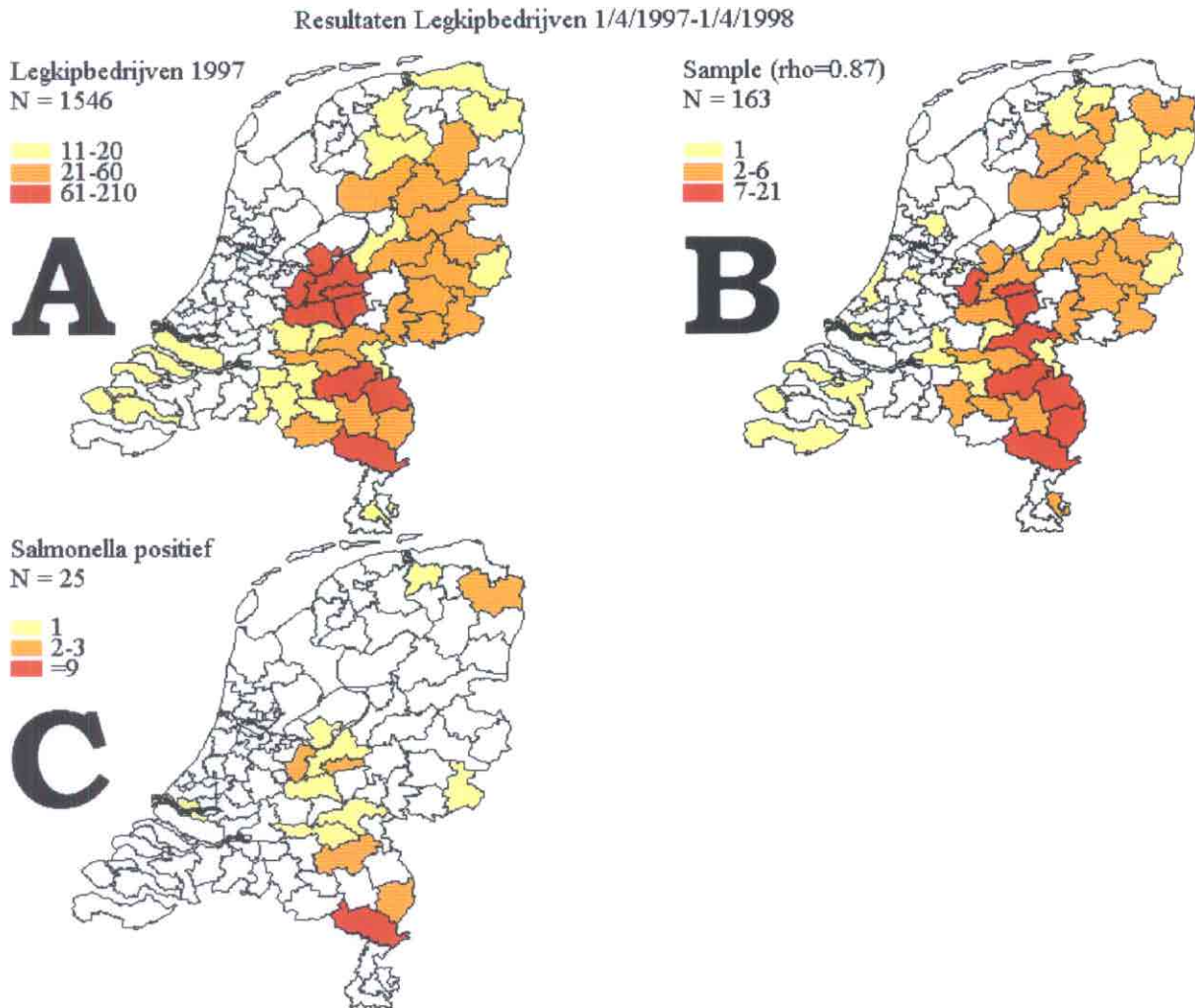
Bedrijfs grootte	Aantal melkkoeien bedrijven	% van de populatie	Aantal te bemonsteren koppels
1 - 10	3.380	0,9	1
10 - 20	3.354	2,8	3
20 - 30	4.621	6,3	6
30 - 50	11.269	24,6	24
50 - 100	13.172	54,0	53
>100	1.669	11,4	11
Totaal	37.465	100,0	98

Bijlage 2A Geografische spreiding vleeskuikenbedrijven



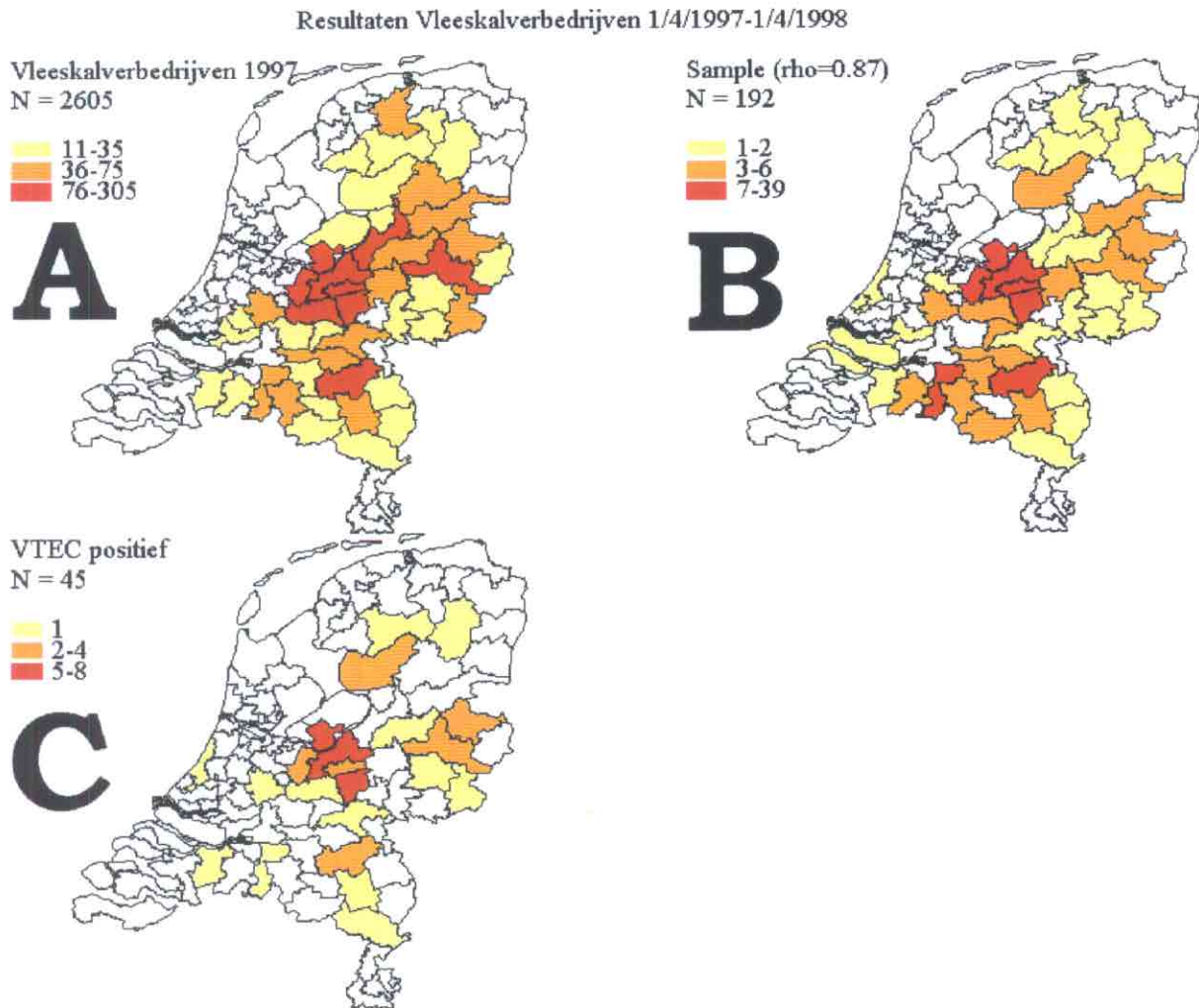
De geografische spreiding over Nederland van bedrijven met vleeskuikens (A), van de bemonsterde koppels vleeskuikens (B) en van de *Salmonella*- (C) en *Campylobacter*- (D) positieve koppels vleeskuikens. Gegevens over de bedrijven zijn verkregen van de Gezondheidsdienst voor Dieren. Rho is de Spearman correlatiecoëfficiënt, welke een maat is voor de correlatie tussen de verdeling van alle en de bemonsterde bedrijven.

Bijlage 2B Geografische spreiding legkippenbedrijven



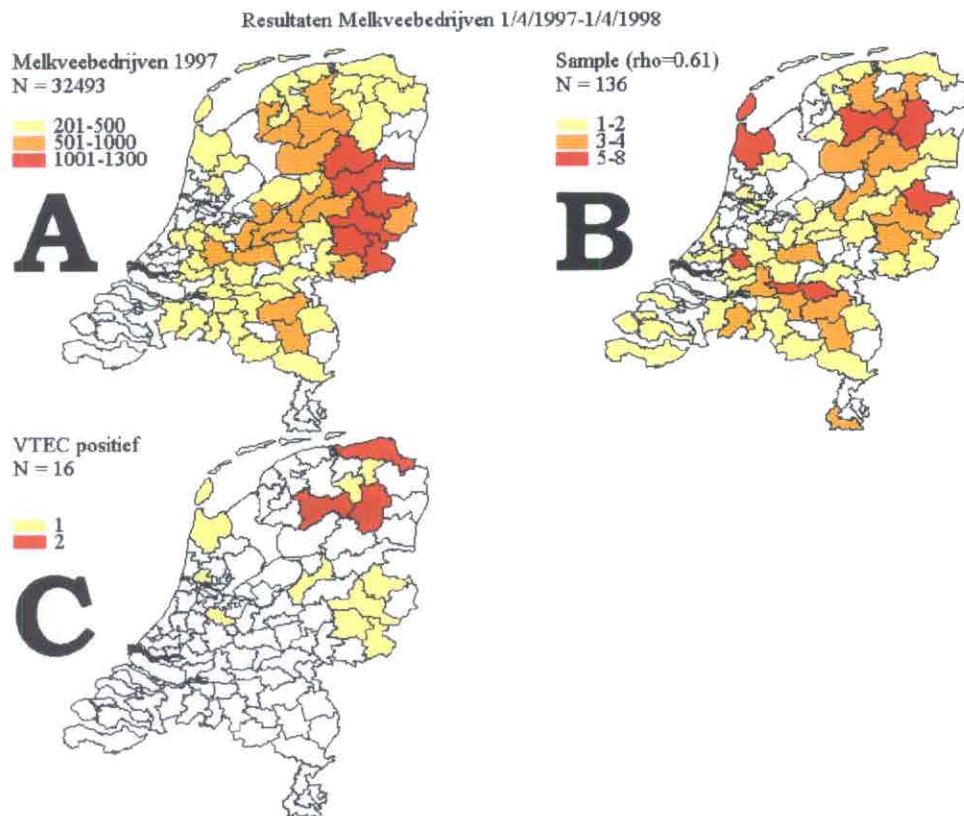
De geografische spreiding over Nederland van bedrijven met legkippen (A), van de bemonsterde koppels legkippen (B) en van de *Salmonella*-positieve koppels legkippen (C). Gegevens over de bedrijven zijn verkregen van de Gezondheidsdienst voor Dieren. Rho is de Spearman correlatiecoëfficiënt, welke een maat is voor de correlatie tussen de verdeling van alle en de bemonsterde bedrijven.

Bijlage 2C Geografische spreiding vleeskalverbedrijven



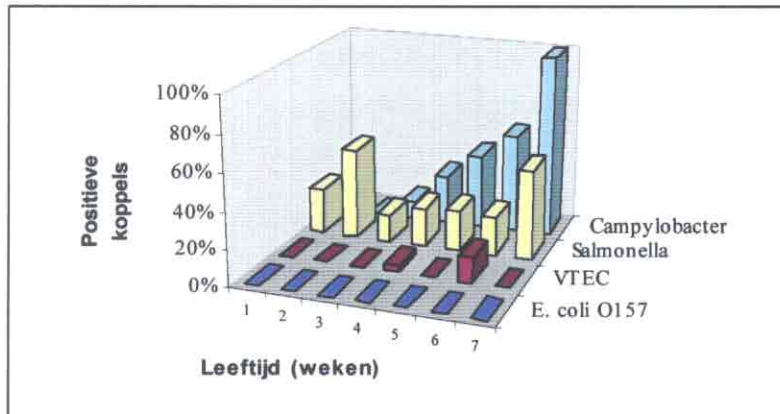
De geografische spreiding over Nederland van bedrijven met vleeskalveren (A), van de bemonsterde koppels vleeskalveren (B) en van de VTEC-positieve koppels vleeskalveren (C). Gegevens over de bedrijven zijn verkregen van de Gezondheidsdienst voor Dieren. Rho is de Spearman correlatiecoëfficiënt, welke een maat is voor de correlatie tussen de verdeling van alle en de bemonsterde bedrijven.

Bijlage 2D Geografische spreiding melkveebedrijven

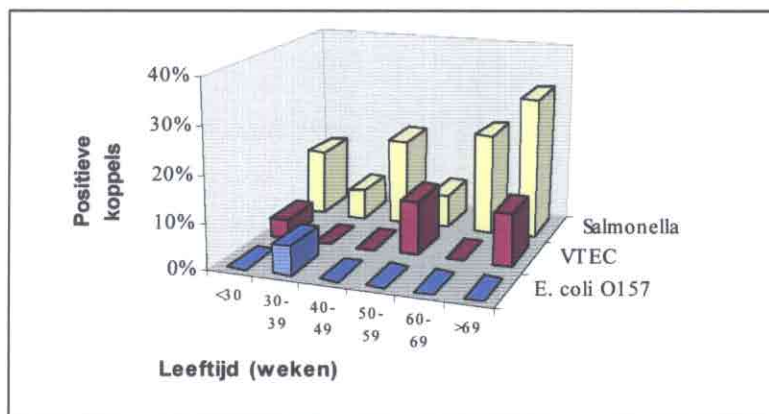


De geografische spreiding over Nederland van bedrijven met melkkoeien (A), van de bemonsterde koppels melkkoeien (B) en van de VTEC-positieve koppels melkkoeien (C). Gegevens over de bedrijven zijn verkregen van de Gezondheidsdienst voor Dieren. Rho is de Spearman correlatiecoëfficiënt, welke een maat is voor de correlatie tussen de verdeling van alle en de bemonsterde bedrijven.

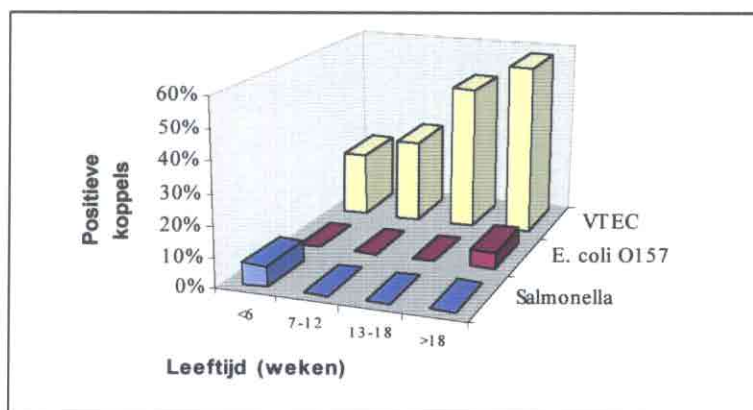
Bijlage 3 Leef Tijdsverdeling positieve koppels



Figuur 1. Leef tijdsverdeling positieve koppels vleeskuikens.



Figuur 2. Leef tijdsverdeling positieve koppels legkippen.



Figuur 3. Leef tijdsverdeling positieve koppels vleeskalveren.

Bijlage 4 Resultaten surveillance van zoonoseverwekkers bij landbouwhuisdieren - april 1997 t/m maart 1998 -

Diercategorie	Kwartaal	Jaar	Aantal koppels positief / aantal koppels onderzocht (%)			
			<i>Salmonella</i>	<i>Campylobacter</i>	<i>E. coli</i> O157	VTEC
Legkippen	II	97	2/24 (8,3)	n.o. ^a	1/24 (4,2)	4/22 (18,2)
	III	97	4/46 (8,7)	n.o.	0/46 (0,0)	0/27 (0,0)
	IV	97	15/43 (34,9)	n.o.	0/43 (0,0)	1/29 (3,4)
	I	98	4/50 (8,0)	n.o.	0/50 (0,0)	0/36 (0,0)
	Totaal		25/163 (15,3)		1/163 (0,6)	5/114 (4,4)
Vleeskuikens	II	97	4/18 (22,2)	5/14 (35,7)	0/18 (0,0)	1/14 (7,1)
	III	97	6/23 (26,1)	5/13 (38,5)	0/23 (0,0)	1/11 (9,1)
	IV	97	6/22 (27,3)	11/20 (55,0)	0/22 (0,0)	0/16 (0,0)
	I	98	6/37 (16,2)	4/37 (10,8)	0/37 (0,0)	0/27 (0,0)
	Totaal		22/100 (22,0)	25/84 (29,8)	0/100 (0,0)	2/68 (3,2)
Melkkoeien	II	97	0/18 (0,0)	n.o.	0/18 (0,0)	5/17 (29,4)
	III	97	0/25 (0,0)	n.o.	2/25 (8,0)	4/9 (44,4)
	IV	97	0/39 (0,0)	n.o.	4/39 (10,3)	1/33 (3,0)
	I	98	0/54 (0,0)	n.o.	0/54 (0,0)	6/34 (17,6)
	Totaal		0/136 (0,0)		6/136 (4,4)	16/93 (17,2)
Vleeskalveren	II	97	0/24 (0,0)	n.o.	3/24 (12,5)	22/23 (95,7)
	III	97	1/24 (4,2)	n.o.	0/23 (0,0)	2/10 (20,0)
	IV	97	2/66 (3,0)	n.o.	0/66 (0,0)	9/28 (32,1)
	I	98	0/78 (0,0)	n.o.	0/78 (0,0)	12/50 (24,0)
	Totaal		3/192 (1,6)		3/191 (1,6)	45/111 (40,5)

^a n.o., niet onderzocht.

Bijlage 5A *Salmonella* in vleeskuikens

Koppel nr.	MGB code	Datum monster-Name	Aantal positieve monsters / totaal aantal monsters	Type <i>Salmonella</i>
1	9 KU	20/05/97	5/5	<i>S. Indiana</i> (n=3) / <i>S. Infantis</i> (n=2)
2	10KU	26/05/97	5/5	<i>S. Paratyphi B</i> var <i>java</i> (n=5)
3	16KU	09/06/97	5/5	<i>S. ontypeerbaar/rough</i> (n=4) / <i>S. Infantis</i> (n=1)
4	17KU	16/06/97	2/5	<i>S. Oranienburg</i> (n=2)
5	26KU	15/07/97	2/5	<i>S. Livingstone</i> (n=2)
6	27KU	21/07/97	2/5	<i>S. Heidelberg</i> (n=2)
7	32KU	04/08/97	1/5	<i>S. Rissen</i> (n=1)
8	35KU	25/08/97	4/5	<i>S. Infantis</i> (n=4)
9	40KU	09/09/97	2/5	<i>S. Hadar</i> (n=2)
10	44KU	22/09/97	2/5	<i>S. Enteritidis</i> ft1 (n=2)
11	46KU	29/09/97	5/5	<i>S. Indiana</i> (n=5)
12	48KU	06/10/97	1/5	<i>S. Tennessee</i> (n=1)
13	53KU	14/10/97	5/5	<i>S. Mbandaka</i> (n=5)
14	58KU	10/11/97	1/5	<i>S. Manhattan</i> (n=1)
15	59KU	10/11/97	1/5	<i>S. Montevideo</i> (n=1)
16	65KU	08/12/97	4/5	<i>S. Infantis</i> (n=4)
17	76KU	26/01/98	3/5	<i>S. ontypeerbaar/rough</i> (n=3)
18	78KU	27/01/98	3/5	<i>S. Livingstone</i> (n=3)
19	82KU	16/02/98	5/5 ^a	<i>S. Paratyphi B</i> var <i>java</i> (n=4) / <i>S. Infantis</i> (n=1)
20	84KU	16/02/98	2/5 ^b	<i>S. ontypeerbaar/rough</i> (n=2)
21	102KU	31/03/98	5/5 ^c	<i>S. Paratyphi B</i> var <i>java</i> (n=5)
22	103KU	31/03/98	5/5 ^d	<i>S. Infantis</i> (n=5)

^a RV-BGA-methode: 5/5, DIASALM-methode: 5/5.

^b RV-BGA-methode: 1/5, DIASALM-methode: 2/5.

^c RV-BGA-methode: 5/5, DIASALM-methode: 5/5.

^d RV-BGA-methode: 4/5, DIASALM-methode: 5/5.

Bijlage 5B *Salmonella* in legkippen

Koppel nr.	MGB code	Datum monstername	Aantal positieve monsters / totaal aantal monsters	Type <i>Salmonella</i>
1	21KI	27/05/97	1/5	<i>S. ontypeerbaar/rough</i> ($n=1$)
2	25KI	09/06/97	1/5	<i>S. Enteritidis</i> ft1 ($n=1$)
3	33KI	14/07/97	1/5	<i>S. Enteritidis</i> ft1 ($n=1$)
4	46KI	11/08/97	3/5	<i>S. Livingstone</i> ($n=3$)
5	100KI	02/09/97	1/5	<i>S. Virchow</i> ($n=1$)
6	67KI	16/09/97	4/5	<i>S. ontypeerbaar/rough</i> ($n=4$)
7	75KI	29/09/97	4/5	<i>S. Mbandaka</i> ($n=4$)
8	76KI	29/09/97	2/5	<i>S. Mbandaka</i> ($n=1$) / <i>S. Braenderup</i> ($n=1$)
9	78KI	06/10/97	2/5	<i>S. Braenderup</i> ($n=2$)
10	79KI	07/10/97	1/5	<i>S. Infantis</i> ($n=1$)
11	81KI	13/10/97	1/5	<i>S. Braenderup</i> ($n=1$)
12	86KI	21/10/97	1/5	<i>S. Rissen</i> ($n=1$)
13	87KI	20/10/97	3/5	<i>S. Agona</i> ($n=3$)
14	92KI	03/11/97	1/5	<i>S. Infantis</i> ($n=1$)
15	94KI	03/11/97	4/5	<i>S. Infantis</i> ($n=2$) / <i>S. ontypeerbaar/rough</i> ($n=1$) / <i>S. Enteritidis</i> os ($n=1$)
16	102KI	17/11/97	4/5	<i>S. Kentucky</i> ($n=4$)
17	103KI	17/11/97	3/5	<i>S. Infantis</i> ($n=3$)
18	107KI	24/11/97	5/5	<i>S. Mbandaka</i> ($n=5$)
19	110KI	02/12/97	1/5	<i>S. Enteritidis</i> ft 12 ($n=1$)
20	112KI	01/12/97	2/5	<i>S. Infantis</i> ($n=2$)
21	113KI	01/12/97	5/5	<i>S. Rissen</i> ($n=1$) / <i>S. Infantis</i> ($n=2$) / <i>S. Bareilly</i> ($n=2$)
22	125KI	19/01/98	4/5	<i>S. Bareilly</i> ($n=4$)
23	133KI	09/02/98	5/5 ^a	<i>S. Enteritidis</i> ft12 ($n=1$) / <i>S. Enteritidis</i> ors ($n=2$) / <i>S. Enteritidis</i> os ($n=2$)
24	147KI	02/03/98	5/5 ^b	<i>S. Enteritidis</i> ft1 ($n=3$) / <i>S. Enteritidis</i> ors ($n=2$)
25	158KI	17/03/98	1/5 ^c	<i>S. Braenderup</i> ($n=1$)

^a RV-BGA-methode: 5/5, DIASALM-methode: 3/5.

^b RV-BGA-methode: 1/5, DIASALM-methode: 5/5.

^c RV-BGA-methode: 1/5, DIASALM-methode: 1/5.

Bijlage 5C *Salmonella* in vleeskalveren

Koppel nr.	MGB code	Datum monstername	Aantal positieve monsters / totaal aantal monsters	Type <i>Salmonella</i>
1	35KA	14/07/97	1/5	<i>S. Typhimurim</i> ft506 ($n=1$)
2	65KA	10/11/97	2/5	<i>S. Dublin</i> ($n=2$)
3	94KA	01/12/97	1/5	<i>S. Typhimurim</i> ft506 ($n=1$)

Verzendlijst

- 1-4 Inspectie Gezondheidsbescherming, Waren en Veterinaire Zaken, Hoofd Accountsectie Veterinair, drs. H. Verburg
- 5 Inspectie Gezondheidsbescherming, Waren en Veterinaire Zaken, dr. J.H.M. Nieuwenhuijs
- 6 Directeur Generaal van de Volksgezondheid, Dr. H.J. Schneider
- 7 Hoofdinspecteur Gezondheidszorg
- 8-11 Inspectie Gezondheidsbescherming, Waren en Veterinaire Zaken, Directeur Regionale Dienst Noord, ir. P.A. de Lezenne Coulander
- 12-15 Inspectie Gezondheidsbescherming, Waren en Veterinaire Zaken, Directeur Regionale Dienst Oost, ir. M.A.G. Kuipers
- 16-19 Inspectie Gezondheidsbescherming, Waren en Veterinaire Zaken, Directeur Regionale Dienst Zuid, drs. Th.L. Appelhof
- 20-23 Inspectie Gezondheidsbescherming, Waren en Veterinaire Zaken, Directeur Regionale Dienst Noord-West, dr. G.B. Sieswerda
- 24-27 Inspectie Gezondheidsbescherming, Waren en Veterinaire Zaken, Directeur Regionale Dienst Zuid-West, ir. N.B.M. Olie
- 28 Inspectie Gezondheidsbescherming, Waren en Veterinaire Zaken, drs. W.A. de Leeuw
- 29 Directeur Gezondheidsdienst voor Dieren, dr. P.W. de Leeuw
- 30 Gezondheidsdienst voor Dieren, dr. ir. A.R.W. Elbers
- 31 Gezondheidsdienst voor Dieren, drs. C.P.R.M. Damen
- 32 Drs. A. Fleddéus, ALPURO B.V.
- 33 Dr. A. van de Braak, DENKAVIT Nederland B.V.
- 34 Ir. J.L. de Groot, NAVOBI B.V.
- 35 Voorzitter van de Gezondheidsraad, Rijswijk
- 36 Depot Nederlandse Publikaties en Nederlandse Bibliografie
- 37 Directie RIVM
- 38 Prof.dr.ir. D. Kromhout, Directeur Sector 2
- 39 Dr.ir. A.M. Henken, hoofd MGB
- 40-46 Auteurs
- 47 SBD/Voorlichting & Public Relations
- 48 Bureau Rapportenregistratie
- 49 Bibliotheek RIVM
- 50-65 Bureau Rapportenbeheer
- 66-75 Reserve exemplaren