

Advies van de Hoge Gezondheidsraad
April 2005

BIJDRAGE TOT EEN RISICOBEOORDELING
VAN *CAMPYLOBACTER* SPECIES IN VLEESBEREIDINGEN
OP BASIS VAN PLUIMVEEGEHAKT IN BELGIË

HGR n° 7947

INHOUDSTAFEL

I INLEIDING	3
A. VRAGEN GESTELD AAN DE EVALUATOREN, CONTEXT EN DEFINITIE VAN DE DRAAGWIJDTE.....	3
B. GEVOLGDE METHODOLOGIE	4
C. BRONNEN VAN BESCHIKBARE GEGEVENS.....	5
D. SAMENSTELLING VAN DE WERKGROEP	5
II. GEVAARSIDENTIFICATIE EN -OMSCHRIJVING.....	7
III. GEVAARSKARAKTERISERING.....	9
A. RISICOFACTOREN GEBONDEN AAN HET MICRO-ORGANISME	9
B. RISICOFACTOREN GEBONDEN AAN DE GASTHEER (CATEGORIE BEDOELDE VERBRUIKERS).....	9
C. MODEL VOOR DOSIS/RESPONS-RELATIE	9
IV. BEOORDELING VAN DE BLOOTSTELLING.....	11
A. OMSCHRIJVING VAN DE BETROKKEN VOEDINGSMIDDELEN EN HUN FABRICATIE / DISTRIBUTIE / VERBRUIKSMETHODE.....	11
B. CONTAMINATIELEVEL EN –PREVALENTIE VAN DE BETROKKEN VOEDINGSMIDDELEN OP DE IN ACHT GENOMEN STAPPEN VAN DE VOEDSELKETEN.....	11
i. <i>Internationale gegevens</i>	11
ii. <i>Belgische gegevens</i>	12
iii. <i>Besluit</i>	14
C. CONSUMPTIEGEGEVENS	15
V. RISICOKARAKTERISERING.....	17
I DETERMINISTISCHE AANPAK.....	17
II PROBABILISTISCHE AANPAK	19
VI. AANBEVELINGEN IN VERBAND MET DE GESTELDE VRAGEN.....	36
VII. PERSPECTIEVEN & NOOD AAN ONDERZOEK.....	37
VIII. BRONNEN EN BIBLIOGRAFISCHE REFERENTIES.....	39

I INLEIDING

a. Vragen gesteld aan de evaluatoren, context en definitie van de draagwijdte

Infecties veroorzaakt door *Campylobacter* vormen een ernstig volksgezondheidsprobleem in België. Ze zijn de 2^{de} oorzaak van voedselinfecties, na *Salmonella*. Het aantal opgespoorde humane gevallen is van de orde van 70 gevallen/jaar/10⁵ inwoners. Overeenkomstig sommige studies zouden pluimveevlees en –bereidingen verantwoordelijk zijn voor 40 % van alle humane gevallen van campylobacteriose. Het is echter moeilijk nauwkeurige epidemiologische gegevens over de voedselinfecties te wijten aan dit pathogeen te verkrijgen, onder andere omdat ze dikwijls een sporadisch en seizoengebonden karakter vertonen (hetgeen een epidemiologisch verband tussen de gevallen niet uitsluit). Alleen 1 tot 2 haarden/jaar worden opgetekend en maken het voorwerp uit van een enquête.

De resultaten van de microbiologische controles, uitgevoerd zowel door de ambtelijke overheden (Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen (FAVV) als door de voedingsbedrijven, wijzen erop dat de prevalentie van de besmetting door *Campylobacter spp.* van producten uit de pluimveeketen betrekkelijk hoog is.

Om de impact van de besmetting van producten van de pluimveeketen op het ziekerisico te wijten aan *Campylobacter* voor de verbruikers beter af te bakenen en om de geschikte beheermaatregelen te treffen, is het nuttig risico-evaluaties uit te voeren. Evaluaties zijn thans lopend, zowel op internationaal (zie bijvoorbeeld de analyses uitgevoerd door het JEMRA) als op nationaal niveau (zie bijvoorbeeld het CARMA project in Nederland) omtrent dit volksgezondheidsprobleem.

Onder de verschillende mogelijke beheeropties is de bepaling van een microbiologische norm voor bepaalde hierbij betrokken producten een maatregel, die door DG 4 « Dier, Plant en Voeding » van de FOD, Volksgezondheid, Veiligheid van de Voedselketen en Leefmilieu overwogen wordt. De overwogen norm is van het type prestatiedoelstelling, die van toepassing is op het stadium van de handel. Dit betekent dat de toeleveringsoperatoren de nodige hygiëne- en controlemaatregelen moeten treffen om deze prestatiedoelstelling te bereiken

De desbetreffende producten zijn bereidingen op basis van gehakt pluimveevlees zoals bijvoorbeeld worsten, chipolataworstjes, paupiettes, bereid gehakt, *chicken burger*. Deze producten zijn meestal bestemd om vóór verbruik verhit te worden. De aandacht dient echter gevestigd te worden op een nieuwe mode, waarbij het pluimveegehakt rauw wordt verbruikt. Deze mode zou beperkt zijn tot sommige streken van het land.

Te noteren valt dat er geen microbiologische norm bestaat voor deze combinatie pathogeen/voedingswaar. De reglementering van Nederland voorziet het criterium « afwezigheid in 25g » (met uitzondering van de niet-verwerkte rauwe producten). Een advies werd door de Europese Commissie aan het EFSA gevraagd (de opinie van het EFSA werd intussen bekendgemaakt), om de Europese beschikking, die thans aan haar afwerking toe is en die betrekking heeft tot microbiologische criteria voor voedingsmiddelen, (na haar goedkeuring in 2005) aan te vullen. Deze studie heeft bijgevolg een dubbele doelstelling : enerzijds de vaststelling van een Belgische norm van het type prestatiedoelstelling op wetenschappelijk vlak te staven om de volksgezondheid te beschermen en anderzijds aan de Administratie de wetenschappelijke elementen te verstrekken om het Belgische standpunt in Europese en internationale discussiefora te verdedigen.

Overeenkomstig de internationale en Europese vereisten moet de vaststelling van een microbiologische norm wetenschappelijk gegrond zijn op een risico-evaluatie of tenminste op het advies van experts.

DG 4 van de FOD Volksgezondheid, Veiligheid van de Voedselketen en Leefmilieu heeft bijgevolg het advies van de Hoge Gezondheidsraad (HGR) over dit probleem gevraagd. Meer bepaald zijn de door DG4 aan de HGR gestelde vragen (in een brief van 28.10.03 met de referentie ADM/1624) de volgende :

- Rekening gehouden met de beschikbare gegevens en de andere voedingsmiddelen, die als potentieel gevaarlijk worden beschouwd (voorbeelden: rauwe vleeskippen, stukken en lever van rauw pluimvee, rauwe melk, bronnen buiten de voeding, ...), welk is de limiet (schatting) die het risico voor de verbruikers zou kunnen verlagen en de humane incidentie van campylobacteriose, te wijten aan vleesbereidingen op basis van gehakt pluimveevlees, terugdringen? Deze limiet zou van toepassing zijn op het stadium van de detailhandel.
- Voor de desbetreffende producten op het verbruiksstadium, welk is het risiconiveau, dat verbonden is met verschillende concentraties van het pathogeen (voorbeelden: afwezigheid in 25g, in 10g, in 1g, in 0,1g en in 0,01g) ?
- Rekening gehouden met de beoordeling van het risiconiveau (met inbegrip van de invloed op het risico van het verwachte productverbruik) is de vaststelling van een voorlopige norm voor het pathogeen in de bedoelde voedingsmiddelen al dan niet relevant?

Voor zover het mogelijk is, wordt gevraagd dat deze evaluatie overeenkomstig de principes en richtlijnen betreffende de beoordeling van de microbiologische risico's wordt uitgevoerd. Er wordt echter toegegeven, vóór het begin van de studie, dat talrijke gegevens thans ontbreken om een volledige evaluatie uit te voeren. Talrijke hypothesen en schattingen werden bijgevolg gemaakt. Onderzoeksprojecten over dit thema zullen eerstdaags opgestart worden. De resultaten van deze projecten zullen het model kunnen aanvullen en achteraf de hierna voorgelegde conclusies verfijnen.

De beschikbare gegevens hebben alleen betrekking tot thermotolerante *Campylobacter* (*C. jejuni* en *C. coli*). De risico-evaluatie concentreert zich op beide species behalve andere vermelding.

b. Gevolgde methodologie

De bedoeling van de risicobeoordeling bestaat erin aan de bevoegde overheden opties van risicobeheer voor te stellen, die ze in staat zou moeten stellen bijvoorbeeld een nationaal standpunt in het kader van de vaststelling van Europese microbiologische criteria te verdedigen of prestatiedoelstellingen te bepalen op het vlak van de *Codex Alimentarius*.

Deze evaluaties worden uitgevoerd overeenkomstig de door de *Codex Alimentarius* ontwikkelde principes en methodologie: gevaarsidentificatie, gevaarskarakterisering, evaluatie van de blootstelling en karakterisering van de risico's. Deze aanpak vereist een multidisciplinaire benadering waarbij de microbiologie, epidemiologie, geneeskunde, statistieken en modelvorming een rol spelen.

Concreet beoogt de studie de evaluatie van het gedrag van *Campylobacter* in vleesbereidingen op basis van gehakt pluimveevlees afhankelijk van de productie/distributieomstandigheden en van de verbruiksgewoonten (verhitting, kruiscontaminatie).

Deze benadering betreft verschillende aspecten : het effect van de blootstelling van de Belgische bevolking, de bewaringsomstandigheden van het voedingsmiddel tot het verbruik (invriezing-ontdooiing, onderverhitting, kruiscontaminatie) en het dosis-respons effect. Om twee specifieke risico's in het licht te stellen werden twee simulaties uitgevoerd : een eerste berust op het verbruik van het rauwe voedingsmiddel en een tweede op het verbruik na verhitting. In dit geval heeft men geschat dat 20% van de bereidingen een onderverhitting ondergaan.

De gevolgde benadering gebruikt twee aanvullende aanpakken, de probabilistische aanpak (distributies van probabiliteiten) en de deterministische aanpak (« worst case » bijvoorbeeld).

De voorgelegde studie werd uitgevoerd op basis van de volgende gegevens :

- Gegevens betreffende de dosis/respons-relatie (Medema et al. (1996)).
- Gegevens betreffende de prevalentie en het besmettingsniveau te wijten aan *Campylobacter* spp. in de voedselketen in België (LNR, 2003).

- Gegevens betreffende de groei, de overleving en de mogelijke kruiscontaminatie tijdens het doorlopen van de voedselketen zoals omschreven in de gevaarsidentificatie en de evaluatie van de blootstelling.
- Noties voor de kwantitatieve risico-evaluatie (Oscar 2004 en Rosenquist 2003).
- Preliminary Report of the Joint FAO/WHO workgroup on Risk Assessment of *Campylobacter* in broiler chickens.

Een latere validatiefase zal de gegevens inzake humane infecties met *Campylobacter* in België opnemen.

De ontwikkelde benaderingen laten niet toe een «onzekerheid» te bepalen; alleen de «variabiliteit» van de methodes kan overwogen worden.

c. Bronnen van beschikbare gegevens

Om de becijferde schattingen van de risico-evaluaties uit te voeren hebben we als basis genomen de nationale gegevens van de bewakingsprogramma's van het Instituut voor Veterinaire Keuring en van de algemene Eetwareninspectie, instellingen die nu verenigd zijn in het kader van het FAVV. De internationale gegevens komen uitsluitend uit de bewaking van zoönoses en zoönoseverwekkers in de Europese Unie.

a) Bronnen van internationale gegevens :

In het kader van de richtlijn 92/117/EEG betreffende de bewaking van zoönoses en zoönoseverwekkers in de Europese Unie, worden de verschillende lidstaten ertoe gehouden aan het gemeenschappelijk referentielaboratorium van Berlijn relevante gegevens mede te delen betreffende de belangrijkste zoönoseverwekkers. De recentste gegevens komen uit het « *Report on Trends and sources of zoonotic agents in the European Union and Norway, 2001* ».

Geen enkele gegevens betreffende gehakt pluimveevlees is daarin beschikbaar maar een aantal landen hebben gegevens betreffende de prevalentie van *Campylobacter* in pluimveevlees tussen 1996 en 2001. Deze gegevens laten toe een ruwe schatting van de toestand in Europa te maken.

b) Bronnen van nationale gegevens :

De bewakingsprogramma's van zoönoses in het kader van de vleesproductie in België, die elk jaar sinds 1997 werden uitgevoerd, hebben toegelaten de prevalentie van *Campylobacter* in de verschillende vers vleesketens in België te schatten. Deze gegevens hebben het Instituut voor Veterinaire Keuring en het federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen in staat gesteld enerzijds de evolutie van de prevalentie van deze kiemen op te volgen en anderzijds zich een beeld te vormen van het besmettingsniveau in de verschillende ketens. In de specifieke pluimveesector werden modellen elk jaar sinds 1997 getest. Het betreft kippen- en hennenkarkassen en kippenfilets. Sinds 2002 worden ook de bereidingen op basis van rauw gehakt pluimveevlees getest.

Verscheidene punctuele studies werden door de Algemene Eetwareninspectie in de distributiesector uitgevoerd. Een planning « gehakt pluimveevlees » werd tussen mei en september 2002 verwezenlijkt en had betrekking tot elk type bereidingen op basis van gehakt pluimveevlees. De monsters werden in beenhouwerijen, grote warenhuizen, bij traiteurs, in de afdeling voorverpakte of vers versneden producten opgenomen.

d. Samenstelling van de werkgroep

BAERT Katleen
 DAUBE Georges (Voorzitterschap - rapporteur)
 DE ZUTTER Lieven
 DIERICK Kathelijne
 DUBOIS Jean-Jacques (secretariaat - rapporteur)

GHAFIR Yasmine (rapporteur)
HERMAN Lieve
HORION Benoit
MELIN Pierrette
MICHIELS Chris
PIERARD Denis (rapporteur)
SINDIC Marianne
SUYS Ivan
UYTTENDAELE Mieke (rapporteur)
VAN HOOFF Jan
VIVEGNIS Jacques

II. Gevaarsidentificatie en -omschrijving

Campylobacter zijn spiraalvormige of gekromde Gram negatieve bacteriën; ze zijn beweeglijk, microaërofiel, ze gebruiken geen suikers en zijn mesofiel, dus aangepast aan het leven in de mucus van het maagdarmkanaal van mens en dieren. Sommige *Campylobacter* zijn thermotolerant genoemd. Onder de talrijke species van het geslacht *Campylobacter*, is *Campylobacter jejuni* de overheersende species in de humane pathologie. De menselijke ziekte, die het meest frequent wordt verbonden met *Campylobacter*, is een acute enteritis, die kan gecompliceerd worden door bacteriëmie en secundaire localisaties), en een post-infectieuze complicaties veroorzaken, zoals het Guillain-Barré syndroom. Campylobacteriose is de meest frequente bacteriële darminfectie in de geïndustrialiseerde landen. De geschatte jaarlijkse incidentie van infecties met *Campylobacter* in de algemene bevolking varieert naar landen en neemt toe in sommige ervan. De belangrijkste reservoirs zijn de huisdieren (gevogelte, runderen, varkens, kleine herkauwers), de gezelschapsdieren (katten, honden) en de wilde dieren (vogels, knaagdieren). De infectie met *Campylobacter* is een zoonose. Er zijn tal van overdrachtsroutes. De belangrijkste overdracht neemt waarschijnlijk plaats via inname van onvoldoende verhitte besmette voedingsmiddelen, hoofdzakelijk gevogelte of voedingswaren besmet tijdens bereiding (groenten) (kruiscontaminatie). Water en rauwe melk werden ook betrokken in de omschrijving van grote epidemieën. Sporadische gevallen zijn de belangrijkste vorm van infecties met *Campylobacter*, maar zouden kunnen overeenstemmen met gemeenschappelijke epidemieën of niet-opgespoorde groepsgevallen door de onvoldoende doeltreffende bewakingssystemen (AFSSA, 2004).

Overleving van *Campylobacter jejuni* bij lage temperaturen

De resultaten van een studie, die tot doel heeft de overleving van *Campylobacter jejuni* op verhitte kippewit afhankelijk van de temperatuur te bepalen, wijzen erop dat *C. jejuni* zowel bij koel- als bij kamertemperatuur kan overleven. Bij kamertemperatuur wordt een beperkte overleving van *C. jejuni* vastgesteld, gekenmerkt door gehalten aan snelle mortaliteit. De gemiddelde maximale reductie van *C. jejuni* (tussen 4 en 30°C) beliep 1,5 log eenheid welke de opslagtemperatuur en het referentiemedium ook mocht zijn. Deze resultaten wijzen erop dat *C. jejuni* op producten gemaakt uit besmette gevogelte kan overleven in omstandigheden die geen groei toelaten: ze zouden bijgevolg een voedselinfectie kunnen veroorzaken als het pluimvee onvoldoende verhit wordt (Yoon et al. 2004).

Er werd aangetoond dat het aantal *Campylobacter jejuni* / coli met 2 à 3 log cfu/cm² bij -20°C daalt, en met 1 à 2 log cfu/cm² bij 25°C over een periode van 48u onafhankelijk van het type model (ruwe kippen- of varkenshuid), van de species of het zuurstofgehalte (kamerlucht of microaërobie). Bij 4°C, is er geen merkbare wijziging van het aantal leefbare *Campylobacter* in 48u. Bij 37°C alsook bij 42°C, neemt het aantal leefbare *Campylobacter* op significante wijze toe (2 à 3 log cfu/cm²) in microaërofiële omstandigheden (5% O₂ en 10% CO₂) (Solow et al. 2003).

Het vermogen een verlengde blootstelling bij lage temperatuur (4°C) te verdragen is afhankelijk van de stam. De relatieve tolerantiegraad aan invriezing bij -20°C is ook afhankelijk van de stam (19 stammen van *C. jejuni* werden tijdens een studie getest: 10 waren van klinische oorsprong en 9 kwamen van pluimvee) (Chan et al. 2003).

In IJsland werd een daling van de campylobacteriosegevallen tussen 1999 (116/100 000 inwoners) en 2000 (33/100 000 inwoners) waargenomen. In 2000, werden karkassen van positieve loten ingevroren vooraleer ze op de markt werden gebracht. Het invriezen van de karkassen, alsook de informatie van het publiek, de preventieve maatregelen op de boerderij en andere niet-geïdentificeerde factoren (zoals variaties in de weersomstandigheden) hebben tot een reductie van de gevallen bijgedragen. (Stern et al. 2003).

Primaire contaminatie van pluimveevlees

De moleculaire typering van de geïsoleerde *Campylobacter* spp stammen in een pluimveeslachthuis heeft aangetoond dat de stammen, geïsoleerd uit karkassen en feces van pluimvee, een gelijkaardig profiel hebben. Het onderzoek, uitgevoerd op opeenvolgende loten in de verwerkingsfabriek, heeft aangetoond dat er een kruiscontaminatie gebeurt (Rivoal et al. 1999). *C. jejuni* werden geïsoleerd uit karkassen van loten kiemvrije kippen, die geslacht werden na gecontamineerde loten (feces); de

profielen van de geïsoleerde stammen waren dezelfde (Miwa et al. 2003). *Campylobacter* werden geïsoleerd uit de hele uitrusting van de behandelingsketen, van de vervoerkisten van kippen tot de koelkasten, en ook uit de omgevingslucht (Berndtson et al. 1996). De resultaten van een studie hebben er echter op gewezen dat de incidentie van *Campylobacter* een significant dalende tendens vertoont bij vleeskippen, die door lucht gekoeld worden, wat eventueel wijst op een grotere kruiscontaminatie van vleeskippen gekoeld door onderdompeling (Sanchez et al. 2002). Andere bijzonderheden over de invloed van de verschillende processen inzake bedwelmen, uitbloeden, broeien, plukken, evisceratie, wassen en koelen op de incidentie van *Campylobacter* vindt men terug in het « Preliminary report of the Joint FAO/WHO work group on Risk Assessment of *Campylobacter* in broiler chickens » (2002).

Een onderzoek werd ook in België uitgevoerd door de onderzoeksgroep van Prof. De Zutter, Dr. Herman en Prof. Uyttendaele over de verdeling van *Campylobacter* spp. in slachthuizen en verwerkingsateliers. Deze studie heeft een kruiscontaminatie naar voor gebracht tijdens het slachten en de verwerking als men eerst positieve loten of karkassen slacht of behandelt (*persoonlijke mededeling*).

Pluimveestukken zonder huid zijn op significante wijze minder besmet door *Salmonella*, *C. jejuni* en *C. coli* dan pluimveestukken met huid. Een toename van de besmettingsgraad werd tijdens het versnijden en andere behandelingen vastgesteld (Uyttendaele et al. 1999). Verlengd contact met de apparaten, de handen en de werktuigen tijdens de verwerking en de versnijding kan een hogere contaminatie van het product veroorzaken (kruiscontaminatie). Ondanks het bestaan van mogelijke kruiscontaminatie, is er in de literatuur geen informatie over de invloed van het sorteren en de verpakking op de besmettingsniveaus (Preliminary Report of the Joint FAO/WHO workgroup on Risk Assessment of *Campylobacter* in broiler chickens 2002).

III. Gevaarskarakterisering

a. Risicofactoren gebonden aan het micro-organisme

De pathogeniciteit van gastro-intestinale ziekten veroorzaakt door *Campylobacter jejuni* is nog niet volledig ontcijferd. De gekende virulentiefactoren van *C. jejuni* omvatten toxines (diverse enterotoxines en cytotoxines), aanhechting, motiliteit, ijzer capaciteit vermogen en bacteriële invasie. Na inname moeten de *Campylobacter* de maagbarrière overwinnen. Een verlaagde maagzuurgraad (bijvoorbeeld door het gebruik van antacida) verhoogt het risico van infectie met *Campylobacter*. *Campylobacter* koloniseren eerst het jejunum en het ileum, en tasten vervolgens het colon en het rectum aan. Slijmvliesschade en ontsteking worden gelijktijdig in de dunne en de dikke darm waargenomen (*in International handbook of foodborne pathogens*, 2003). In verband met de virulentie kan men opmerken dat er een verschil van stam tot stam kan zijn..

b. Risicofactoren gebonden aan de gastheer (ingesloten verbruikerscategorie)

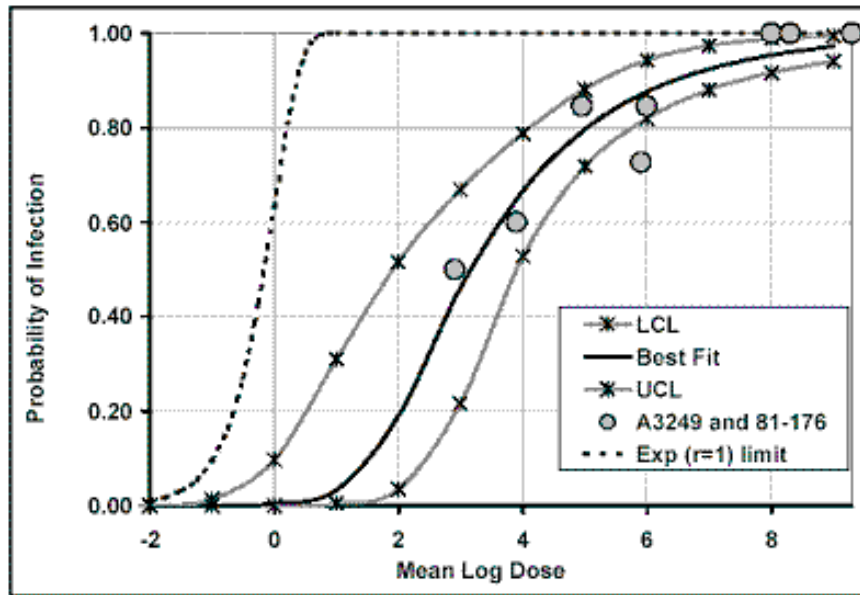
In ontwikkelde landen tast *Campylobacter* alle leeftijdsgroepen aan; het grootste infectiepercentage vindt men bij zuigelingen en jonge kinderen, gevolgd door jonge volwassenen tussen 15 en 29 jaar. De hogere incidentie in deze laatste leeftijdscategorie zou aan een hogere blootstelling zijn te wijten . Het morbiditeitpercentage is hoger bij mannen dan bij vrouwen. *Campylobacteriose* is seizoensgebonden met een zomer piek. De infectieuze dosis voor *C. jejuni* is laag. In vrijwilligersstudies werd infectie reeds vanaf 50 tot 500 organismen aangetoond (*in International handbook of foodborne pathogens*, 2003).

Herhaalde blootstelling, zoals bij werknemers in slachthuizen van vleeskippen, blijkt een beschermingsfactor te zijn. Na herhaalde blootstelling aan *Campylobacter*, ontwikkelen kinderen van 2 tot 5 jaar een aanzienlijke immuniteit, die tot de volwassen leeftijd blijft bestaan. Onderliggende aandoeningen, zoals levercirrose, neoplasie, immunosuppressieve therapie en HIV-infectie, zouden geassocieerd zijn met een hoger risico van bacteriemie (*in International handbook of foodborne pathogens*, 2003).

Deze benadering van de gastheer verbonden risicofactoren sluit alle *Campylobacter* species in, met nadruk op *Campylobacter jejuni*, aangezien het meer dan 90% van de *Campylobacters* geïsoleerd uit pluimvee vormt.

c. Model voor dosis/respons-relatie

Informatie omtrent de dosis-respons in de infectie met *Campylobacter* is schaars: de informatie afgeleid uit epidemiologische gegevens is onvoldoende. Slechts één studie van contaminatie van menselijke vrijwilligers via orale route (Black et al. 1988), waarbij jonge volwassenen gekende aantallen van twee stammen van *C. jejuni* in melk hebben opgenomen , kan gebruikt worden om een dosis/respons-curve op te maken (Figuur 1).



Figuur 1 : Beta-poisson model fit to human feeding trial data for *C.jejuni*, strains A3249 and 81-176.

Figuur 1 toont het Beta-Poisson model aan, aangepast aan de gegevens van de experimentele humane voedselinfectie door *C. jejuni*. Er dient echter opgemerkt te worden dat de gegevens van de studie van Black en medewerkers geen test omvatten met dosissen lager dan 100 *Campylobacter*, waardoor deze curve minder betrouwbaar wordt onder 2 log (In: Gevaarsidentificatie en -karakterisering en evaluatie van de blootstelling verbonden aan *Campylobacter* in vleeskippen MRA01/05. Preliminair verslag van de gezamenlijke werkzaamheden FAO/WHO inzake evaluatie van de microbiologische risico's in voedsel).

De auteurs van dit verslag wijzen er echter op dat nieuwe experimentele gegevens zouden moeten bekomen worden vooraleer dit model op een betrouwbare manier in de studie van de risico-evaluatie te kunnen gebruiken.

De handboeken concluderen uit de studie van Black en medewerkers dat de inname van amper 500 cellen van *Campylobacter* voldoende is om de infectie te veroorzaken (bijvoorbeeld, Evans AS, Brachman PS, *Bacterial Infections of Humans*, 3rd ed., Plenum Medical Book Company, New York, 1988).

Andere benaderingen voor het gebruik van de dosis / respons-relatie worden in het hoofdstuk risicokarakterisering bestudeerd.

IV. Beoordeling van de blootstelling

a. Omschrijving van de betrokken voedingsmiddelen en hun fabricatie/distributie/verbruiksmethode

De desbetreffende producten zijn bereidingen op basis van gehakt pluimveevlees zoals bijvoorbeeld worsten, chipolataworstjes, paupiettes, bereid gehakt, *chicken burger*. Deze pluimveebereidingen worden vervaardigd op basis van pluimveevlees waaraan varkens- en/of pluimveevetstof (pluimveehuid) wordt toegevoegd. Hun verpakking kan luchtdoordringbaar zijn, waterdicht of onder gewijzigde atmosfeer. Deze producten zijn meestal bestemd om voor verbruik verhit te worden. De aandacht dient echter gevestigd te worden op een nieuwe mode, waarbij het pluimveegehakt rauw wordt verbruikt.

b. Contaminatieniveau en –prevalentie van de betrokken voedingsmiddelen op de in acht genomen stappen van de voedselketen

i. Internationale gegevens

Een Engelse studie toont aan dat *Campylobacter spp.* aanwezig is in 82% van de rauwe hele kippen, die in de detailhandel worden gekocht. *Campylobacter* werd geïsoleerd uit 56% monsters van zowel binnen- als buitenverpakking. Dit micro-organisme werd geïsoleerd op de binnenzijde van de verpakking voor 6% van de kippen. De besmettingsgraad door *Campylobacter* lag tussen 2,70 en 4,99 log cfu voor 18% van de kippen, tussen 5,00 en 6,99 log cfu in 20% van de monsters. Hij wijst op de noodzaak de nadruk te blijven leggen op de veiligheid van de manipulatie van rauw pluimvee in de detailhandel (Jorgensen et al., 2002).

Een Nederlandse studie heeft kwantitatieve gegevens gepubliceerd over de contaminatieniveaus door *Campylobacter* in kip en kippenproducten in de detailhandel door gebruik te maken van de MPN methode (Meest Waarschijnlijk Aantal) en door rechtstreekse telling: de contaminatieniveaus door *Campylobacter* gaan van minder dan 10 (18%) tot meer dan 5500 (18%) voor de verse karkassen. Het merendeel van de diepgevroren monsters (57%) bevatten minder dan 10 cfu per karkas en 14% bevatten 10 - 100 cfu per karkas (Dufrenne et al, 2001).

Het verslag « *Report on Trends and sources of zoonotic agents in the European Union and Norway, 2001* » vermeldt dat, naast België, 5 lidstaten een bewakingsprogramma van *Campylobacter* in pluimvee tussen 1999 en 2001 gevolgd hebben. Er dient opgetekend te worden dat de gegevens van dit verslag niet toelaten de prevalentie van de verschillende landen te vergelijken en dat geen specifieke gegevens voor bereidingen van rauw gehakt pluimveevlees beschikbaar zijn. De ingezamelde gegevens hebben betrekking op pluimveevlees op het stadium van de consument. Onder deze landen, Denemarken en Zweden hebben een verlaging van de prevalentie van *Campylobacter* in pluimveevlees tussen 1999 en 2001 waargenomen: verlaging van 41% (2000) naar 30% (2001) voor Denemarken en van 25% (1999) naar 11% (2001) in Zweden. Een verhoging van de prevalentie wordt tijdens diezelfde periode in Finland waargenomen (van 4% in 1999 naar 22% in 2001). Er werd geen evolutie vastgesteld tussen 1999 en 2001 in Duitsland en Nederland waar de prevalentie tussen 13% en 40% schommelt.

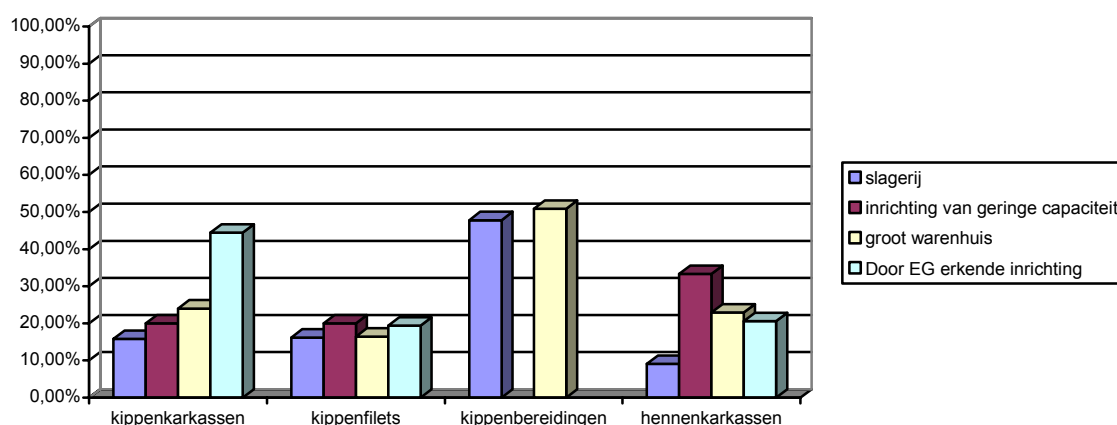
Er zijn dus weinige gegevens beschikbaar in verband met de besmettingsgraad en het besmettingsniveau van de pluimveebereidingen en de bestaande studies zijn moeilijk te vergelijken.

ii. Belgische gegevens

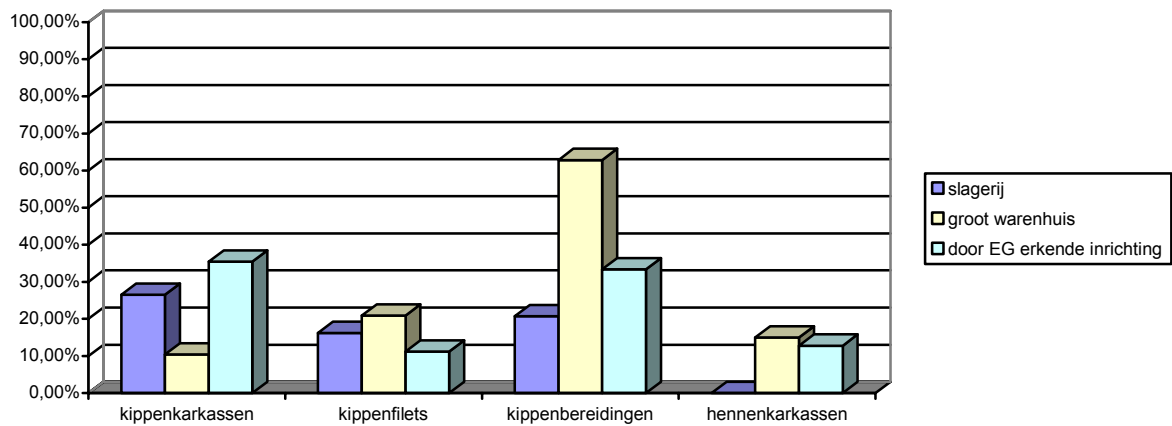
De resultaten van de bewakingsprogramma's van het Instituut voor Veterinaire Keuring en van het federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen op het vlak van de prevalentie van *Campylobacter* in kippenkarkassen, -lever, -filets en -bereidingen alsook in hennenkarkassen worden in tabel 1 voorgelegd. Voor het opsporen van *Campylobacter* in 25g, is de prevalentie hoger dan 70% op karkassen en stukken en van ongeveer 50% in de vleesbereidingen. Er is geen significante evolutie sinds 7 jaar. Figuur 2 geeft de prevalentie van *Campylobacter* in functie van de afnameplaats (erkende instellingen, van geringe capaciteit, grote warenhuizen en slagerijen) voor de jaren 2002 en 2003 (gedeeltelijk).

		1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003p feb- sept		
Kippenkarkassen (huid van de hals)	n	120	146	146	141	141	289	281	258	208
	hoeveelheid	25g	25g	0,1g	0,1g	0,01g	0,01g	0,01g	0,01g	0,01g
	prevalentie	71,0%	72,6%	61,6%	75,9%	58,2%	33,9%	27,1%	34,9%	28,9%
Kippenlever	N	120	142	142						
	hoeveelheid	25g	25g	0,1g						
	prevalentie	61,7%	74,6%	72,5%						
Kippenfilets	N	120	151	151	139	139	276	229	230	184
	hoeveelheid	25g	25g	0,1g	1g	0,01g	1g	1g	1g	1g
	prevalentie	81,8%	83,4%	19,2%	57,6%	19,4%	22,5%	15,3%	18,3%	14,7%
Hennenkarkassen (huid van de hals)	N	120	141	141	122	122	187	192	117	68
	hoeveelheid	25g	25g	0,1g	0,1g	0,01g	0,01g	0,01g	0,01g	0,01g
	prevalentie	91,7%	82,3%	73,0%	90,2%	68,9%	23,0%	19,3%	20,5%	13,2%
Bereiding op basis van rauw gehakt kippenvlees	N							79	84	
	hoeveelheid							25g	25g	
	prevalentie							49,4%	47,6%	

Tabel 1 : Prevalentie van *Campylobacter* in kippenkarkassen, -lever, -filets en –bereidingen en in hennenkarkassen (n : aantal geanalyseerde monsters).

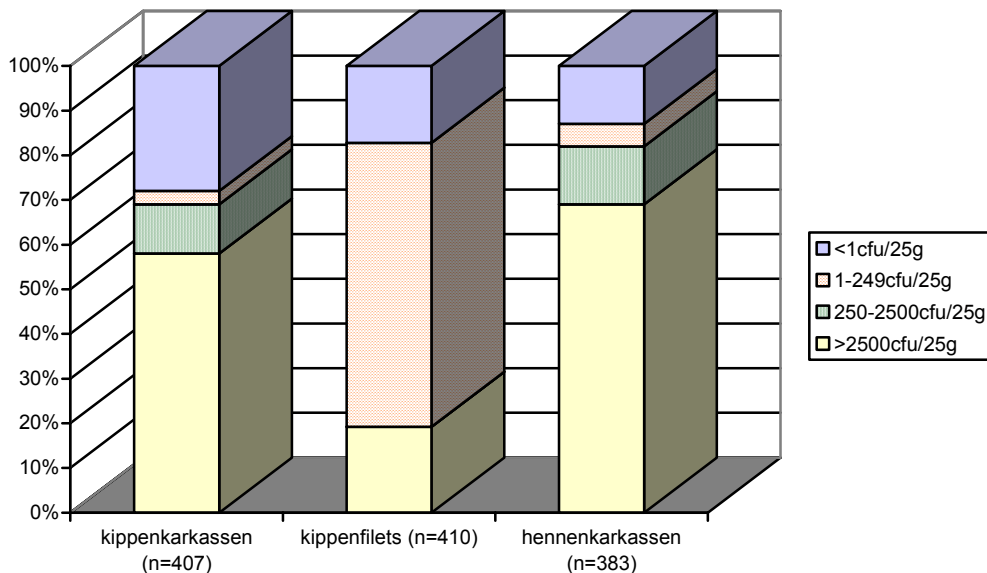


Figuur 2 : Prevalentie van *Campylobacter* in kippenkarkassen (0,01g), kippenfilets (1g), kippenbereidingen (25g) en hennenkarkassen (0,01g) in functie van de afnameplaats (erkende inrichtingen, van geringe capaciteit, grote warenhuizen en slagerijen) in 2002.



Figuur 3: Prevalentie van *Campylobacter* in kippenkarkassen (0,01g), kippenfilets (1g), kippenbereidingen (25g) en hennenkarkassen (0,01g) in functie van de afnameplaats (erkende inrichtingen, van geringe capaciteit, grote warenhuizen en slagerijen) in 2003 (gedeeltelijk).

Tussen 1997 en 1999, werd het opsporen van *Campylobacter* in 3 tot 4 hoeveelheden van verschillende bronnen uitgevoerd (25g, 1g, 0,1g en/of 0,01g) voor kippen- en hennenkarkassen en –stukken. Overwegende dat het percentage monsters met afwezigheid van *Campylobacter* in 25g overeenstemt met het percentage monsters met minder dan één cfu/25g, dat het percentage monsters met tussen 1 en 24 cfu/25g overeenstemt met het verschil tussen de prevalentie van *Campylobacter* in 25g en 1g, enzovoort werd figuur 4 opgesteld. Dit is dus een schatting van het niveau van *Campylobacter* in pluimvee. Deze semi-kwantitatieve studie heeft toegelaten aan te tonen dat de besmettingsniveaus met *Campylobacter* hoog zijn in kippen- en hennenkarkassen en laag in kippenfilets.



Figuur 4: Schatting van het contaminatieniveau van kippenkarkassen en –filets alsook van hennenkarkassen door *Campylobacter* op basis van de gecumuleerde resultaten van de bewakingsprogramma's uitgevoerd in 1997, 1998 en 1999 (n : aantal geanalyseerde monsters).

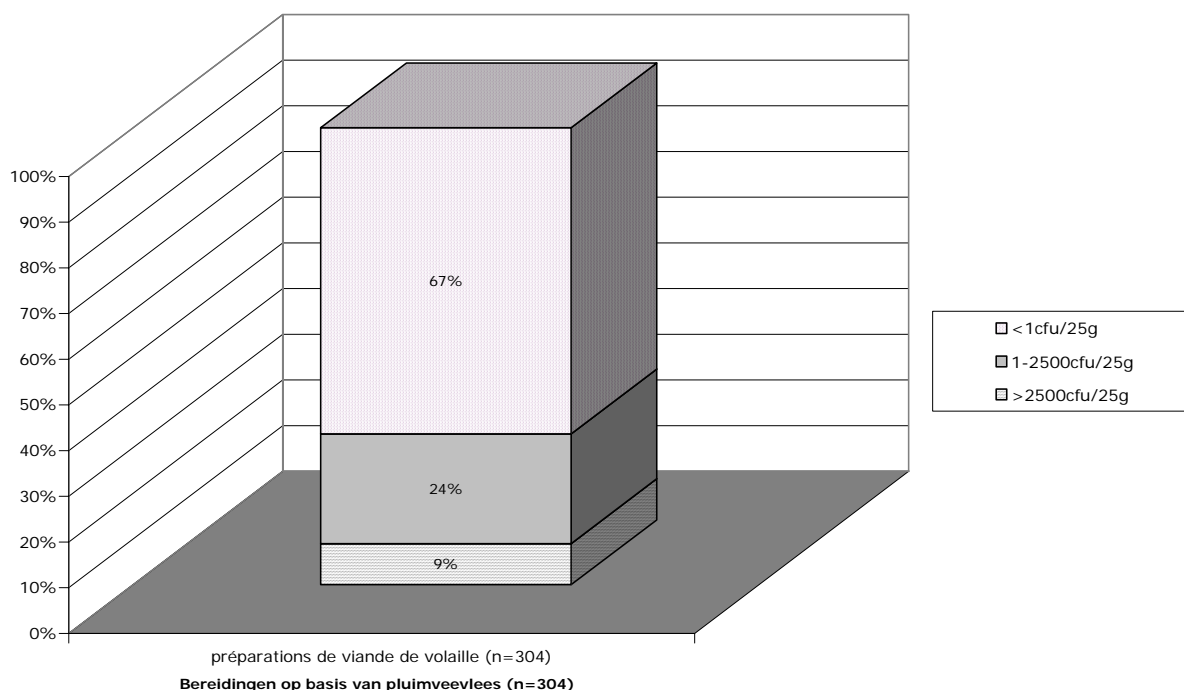
Op dezelfde wijze werd een semi-kwantitatieve schatting van het contaminatieniveau door *Campylobacter* op basis van de in België beschikbare resultaten uitgevoerd (monsterneming bij de detailhandelaar in de programma's van het IVK en de AEWI in 2002). De beschikbare gegevens laten echter slechts een ruwe semi-kwantitatieve interpretatie toe, aangezien de door beide programma's

behaalde resultaten niet identiek zijn, dat de bijkomende monsternemingen niet aselekt gebeurd zijn (bepaling van de probleemondernemingen) en dat het aantal monsters van deze bijkomende monsternemingen zeer beperkt is zoals aangetoond in de verzameling van de resultaten van 2002 samengevat in tabel 2.

Studie uitgevoerd door	Opsporen van <i>Campylobacter</i> in	Aantal monsters	Prevalentie
IVK	25g	79	49,4%
AEWI	25g	210	26,2%
AEWI (bijkomende monsterneming na positiviteit in 25 g)	0,01g	15	26,7%

Tabel 2 : Prevalentie van *Campylobacter* in kippenbereidingen in het kader van de punctuele studies uitgevoerd in 2002 door het IVK en de AEWI.

Met een ruwe verzameling van de resultaten van tabel 2 en zonder mogelijkheid om het betrouwbaarheidsinterval op de resultaten te kennen, kan men een schatting voorstellen van het contaminatieniveau van de bereidingen op basis van kippenvlees zoals weergegeven in figuur 5.



Figuur 5: Schatting van het besmettingsniveau van de bereidingen op basis van pluimveevlees door *Campylobacter* aan de hand van de gecumuleerde resultaten van de bewakingsprogramma's uitgevoerd in 2002 door de AEWI en het IVK (n : aantal geanalyseerde monsters).

iii. Besluit

Op korte termijn kan niet verwacht worden dat de verbruiker kippenvlees vrij van *Campylobacter spp.* zal kunnen kopen. De op de boerderijen toegepaste hygiënische maatregelen boeken resultaten maar kunnen geen waarborg bieden en kunnen dikwijls moeilijk strikt gehandhaafd worden gedurende een betrekkelijk lange periode. Maatregelen zoals vaccinatie, wederzijdse uitsluiting en gebruik van probiotica vormen ook geen oplossing. Gelet op de huidige technologie is een drastische verlaging van de contaminatie door *Campylobacter* tijdens de slachtfase ook niet mogelijk, of tenminste alleen in een zeer beperkte mate. Een studie betreffende de toepasbare en wettelijk toegelaten decontaminatiemethodes kan eventueel een optie zijn.

Uit de verzamelde gegevens vloeit voort dat :

- België zich onder de landen van de Europese Unie bevindt waar de hoogste prevalentie van *Campylobacter* in de vleeskippenketen genoteerd wordt.
- Geen significante verbetering tijdens de laatste jaren in België wordt waargenomen in tegenstelling tot andere landen.
- De bereidingen op basis van pluimveevlees zeer vaak besmet zijn door *Campylobacter* (67%) maar dat de contaminatieniveaus grotendeels ongekend zijn. Men kan ruw schatten dat 9 % besmet zijn door meer dan 100 *Campylobacter* per gram.

Er kan ook opgemerkt worden dat pluimvee (hele dieren) meer besmet is dan de (voor consumptie bestemde) producten. Dit is te wijten aan het feit dat de huid de belangrijkste contaminatiebron is.

In verband met de evaluatieprocedure van het contaminatieniveau blijkt dat talrijke hypothesen in acht werden genomen. Bovendien hebben de gecommuniceerde becijferde gegevens uitsluitend betrekking op de distributie (oorsprong van de monsters).

Het zal dus nodig zijn een methodologie te bepalen om de prevalentiegegevens in distributie van contaminatieniveau om te zetten.

Gegevens omtrent de contaminatiepercentages (kwalitatieve gegevens) en het contaminatieniveau (kwantitatieve gegevens) op het niveau van de detailhandel (de consument) zijn nodig. In vergelijking met *Salmonella*, worden *Campylobacter* in hoge hoeveelheden (> 100, te bepalen door rechtstreekse telling) in verse producten teruggevonden. Uit de kwantitatieve risicoanalyses blijkt dat de hoeveelheden *Campylobacter* aanwezig per karkas een belangrijkere rol spelen in de overdracht van het pathogeen agens dan de gewone aanwezigheid van het pathogeen agens op het voedingsmiddel. Het blijkt dus nodig een microbiologische richtwaarde op kwantitatief vlak te bepalen en eerder het aantal aanwezige *Campylobacter* per karkas of gram product trachten te beperken dan een totale afwezigheid per karkas of 25g trachten te bereiken.

c. Consumptiegegevens

Consumptiegewoonten (B. Horion, persoonlijke mededeling)

Er bestaan geen consumptiegegevens over de in de huidige studie bedoelde producten. Een brede consumptiestudie is thans lopend maar de gegevens zullen slechts in 2006 beschikbaar zijn.

Een andere weg om de consumptie van deze producten te evalueren is gebruik te maken van de gegevens uit enquêtes over de aankopen van de Belgische consumenten. Aan de hand van de resultaten van enquêtes, uitgevoerd bij een panel van +/- 3000 consumenten, kan de volgende tabel voor het jaar 2003 worden opgemaakt :

Tabel 3 : Aankopen van Belgische verbruikers in 2003; steekproeftrekking van +/-3.000 verbruikers.

Producten	Geschat totaal volume (kg/jaar/inwoner)
Vleesbereidingen	16
Bereidingen op basis van pluimvee- en kalkoenvlees	0,90
Verse kippen (braadkip en stukken)	9

De door deze studie bedoelde producten zouden in de categorie « Bereidingen op basis van pluimvee- en kalkoenvlees » ingedeeld worden. Het aankoopvolume van deze producten stemt overeen met ongeveer 5,5 % van het totaal van de vleesbereidingen. Sinds 2002 neemt dit volume jaarlijks steeds met +/- 10 % toe. De aankoopgegevens over kippen worden als vergelijking gegeven.

Bereiding en manipulatie van de kip in het huishouden

Thuis, tijdens de bereiding van maaltijden, kunnen individuen blootgesteld worden aan *Campylobacter* vanaf kippenproducten via een aantal wegen:

- rechtstreekse contaminatie door kippenvlees van elk voedingsmiddel, dat nadien geen verhitting

ondergaat vooraleer ingenomen te worden.

- onrechtstreekse contaminatie via door kippenvlees besmette oppervlakken waarop verhitte producten of verbruiksklaar voedsel geplaatst werden.
- rechtstreekse contaminatie van de handen en daaropvolgende inname.
- onvoldoende verhitting.

Op dit stadium is er dus duidelijk een contaminatie- en overlevingsrisico vóór een mogelijke invriezing of verhitting (ref: *Preliminary Report of the Joint FAO/WHO workgroup on Risk Assessment of Campylobacter in broiler chickens*, 2002).

De kruiscontaminatie van een maaltijd omwille van niet beveiligde procedures bij de behandeling van voedsel moet bestudeerd worden.

De schatting van het infectierisico door kruiscontaminatie via de handen of het keukengerei is een moeilijke oefening omdat de beschikbare gegevens beperkt zijn. Er bestaat informatie over de aanwezigheid van een contaminatie op verschillende oppervlakken ten gevolge van voorbereidende werkzaamheden, maar weinig informatie is beschikbaar in verband met de besmettingsgraad (bijzonderheden over de hoeveelheden *Campylobacter* die overgedragen worden vanaf en op de oppervlakken tijdens de bereiding van kip en over de overleving van deze cellen op deze oppervlakken). Er bestaat een omschrijving van een model van uitlekken alsook van een model van contactoverdracht.

De overleving van *Campylobacter* omwille van een onvoldoende verhitting van de kip

De doelstelling van het hier omschreven model is te bepalen in welke omstandigheden *Campylobacter* zouden kunnen overleven. Een modelvorming kan een hulp zijn door uitleg te verstrekken voor de betrekkelijk grote logaritmische reducties verbonden aan de verhitting. Ze geeft ook een alternatief uitleg over de middelen waardoor *Campylobacter* een volledige thermische behandeling zou kunnen overleven (bijvoorbeeld de thermisch beschermde zones, zoals spleten, luchtblazen of dieper in de massa van het karkas). Er wordt verondersteld dat ongeveer 5 tot 15% van de thuis bereide kippen zodanig zouden bereid worden dat ze een zekere proportie *C. jejuni* cellen toelaten een overlevingskans te hebben. Voor deze 5 tot 15% onvoldoende verhitte kippen acht men dat 10 tot 20% van de op deze kippen aanwezige cellen een overlevingskans hebben (zoals bepaald door de limieten van thermische destructie omwille van de tijd/temperatuur verhouding van de "beschermde zones").

Het contaminatieniveau van diepgevroren kip zou duidelijk lager zijn dan dat van verse producten. *Campylobacter* betuigt van een goed overlevingsvermogen aan koeltemperaturen (4°C). Sommige stammen bieden dikwijls meer weerstand, waarschijnlijk omwille van de aanpassing aan de "omgevende stress". Bij kamertemperatuur zou men een snellere uitsterving vaststellen. Een groei van *Campylobacter* is slechts mogelijk bij temperaturen hoger dan 32°C. Een koeling verlaagt het aantal *Campylobacter*, maar lage contaminatieniveaus blijven aanwezig. De beste overleving in verse producten met huid wordt uitgelegd door het feit dat, in deze producten, *Campylobacter* bij het plukken in de veerfollikels opgesloten wordt en zo beter beschermd is tegen de stress veroorzaakt bijvoorbeeld door ontwatering, invriezing of zuurstoftoevoer (de meest inactiverende ongunstige factoren die de overleving van de bacterie kunnen beïnvloeden). Het staat echter niet duidelijk vast in welke mate deze *Campylobacter* die in de follikels opgesloten zijn tot de kruiscontaminatie kunnen bijdragen. Gelet op de gevoeligheid van *Campylobacter* voor de ontwatering (minimale werkzaamheid van het water belooft 0,987, maximum 1,5% NaCl), zou een studie van de ontsmettingsmogelijkheden van karkassen eventueel in dit richting moeten gaan.

Aangezien het moeilijk is de contaminatie van kippenproducten door *Campylobacter* te vóórkomen, blijft momenteel slechts de hittebehandeling over als doeltreffende eliminatiemaatregel (de waarden van de decimale reductie zijn 0.21-2.25 minuten bij 55-60°C). Is het denkbaar dat kippenproducten na een korte hittebehandeling op de markt worden gebracht, behandeling tijdens welke de Gram negatieve pathogene agentia worden gedood zonder dat de kwaliteit wordt aangetast? De consument moet natuurlijk tijdens de bereiding een hittebehandeling uitvoeren. Een goede informatie van de consument is nodig. De preventie van kruiscontaminatie in de keuken is een belangrijk prioritair probleem.

V. Risicokarakterisering

I DETERMINISTISCHE AANPAK

In de huidige berekeningen wordt geen rekening gehouden met de distributies maar wordt enkel gewerkt met de gemiddelde waarden en een aantal veronderstellingen.

Stel: kippenhamburger van **100g** met diameter 10 cm of een kippenworst van 100g met diameter van 3 cm en een lengte van 14 cm.

Stel een initieel besmettingsniveau van 100 *Campylobacter* /g.

Dit betekent dat in het product van 100g er in totaal 10.000 cellen aanwezig zijn, waarbij wordt verondersteld dat deze cellen gelijkmatig doorheen het product verdeeld zijn (het betreft vermalen vlees!)

Er wordt verondersteld dat er tijdens bewaring van het product noch groei noch afsterving van het pathogeen optreedt (groei is slechts mogelijk bij temperaturen > 32°C en er is een goede overleving van *Campylobacter* onder koele vochtige omstandigheden)

Transmissie van de *Campylobacter* via bereid gevogelte kan op twee manieren plaatsvinden: via kruiscontaminatie of via onderverhitting van het bereid gevogelte. Beide routes worden in rekening gebracht.

1) via kruiscontaminatie

Enkel de cellen aan het uitwendig oppervlak van de kippenhamburger of de kippenworst kunnen aanleiding geven tot kruiscontaminatie.

De oppervlakte van een hamburger is πR^2 , dus in ons geval 78,5 cm² en er wordt verondersteld dat overdracht komt van het bovenste en onderste vlak vanwege de cellen in 1mm aan deze beide oppervlakken dus van in totaal 78,5 cm² x 0,2 cm is 15,7 cm³ of stel ca. 15 g

De contactoppervlakte van een kippenworst wordt verondersteld ook zijnde de buitenste 0,1 cm rand en over een lengte van ca. 14 cm (100g indien gelijk aan 100 cm³ gedeeld door cirkeloppervlak van πR^2 dus is ons geval 7,07 cm²) dus dit komt neer op een volume van (πR^2 met R = 1,5 cm (zijnde 7,068) - πR^2 met R = 1,4cm (zijnde 6,157)) en dit verschil (0,911) x 14 (lengte) is 12,75 cm³ of wordt verondersteld 12,75 g. Er wordt 15 g verondersteld (cfr hamburger).

Kruiscontaminatie is dus mogelijk afkomstig van de cellen aanwezig in de buitenste 15 gram product en dit betekent dus 100/g x 15 g is 1500 cellen die zich aan de oppervlakte van het product bevinden.

De berekening voor kruiscontaminatie kan nu gemaakt worden op basis van het model voor kruiscontaminatie beschreven in het *Preliminary Report van de FAO/WHO on Risk Assessment of Campylobacter in Broiler Chickens (2002)* waarbij dezelfde distributie wordt verondersteld voor contact transfer voor zowel overdracht van het besmette voedselproduct naar het contactoppervlak/handen als van het contactoppervlak/handen terug naar een voedselproduct dat direct zonder bijkomende verhitting of behandeling zal geconsumeerd worden. Het betreft een LogPert distributie met een minimum van -6 (0,0001% transfer), een gemiddelde van -2 (1% transfer) en een maximum van -1 (10% transfer). Stel dat kruiscontaminatie optreedt in 50% van de gevallen.

Dus in het geval van 1500 cellen en een gemiddelde overdracht van 1% betekent dit dat 15 cellen worden overgedragen naar een contactoppervlak en van deze 15 cellen worden dan terug 0,15 cellen overgedragen naar het voedselproduct (dit betekent dus dat er slechts op 1 van de ongeveer 6 gevallen overdracht is van 1 cel). In het slechtste geval wordt dan bij consumptie van het kruisgecontamineerde levensmiddel 1 cel opgenomen

De dosis-respons curven voor één cel (in log waarde is dit 0) geven aanleiding tot een probabiteit van infectie (indien de best fit curve wordt gehanteerd) van 0%.

Dit betekent dat in het geval de contaminatie van het product op basis van bereid gevogelte maximum een contaminatieniveau van 100/g bereikt dit geen aanleiding geeft tot infectie omwille van kruiscontaminatie

Indien het contaminatieniveau 1.000/g bereikt geeft dit aanleiding tot gemiddeld 1 tot 2 cellen per geconsumeerde eenheid en blijft de probabilliteit van infectie via kruiscontaminatie 0%

Indien het contaminatieniveau 10.000/g bereikt geeft dit aanleiding tot gemiddeld 15 cellen per geconsumeerde eenheid en wordt de probabilliteit van infectie (indien de best fit curve wordt gehanteerd) via kruiscontaminatie ca. 5%

2) via onderverhitting van het gecontamineerd bereid gevogelte

In dit geval wordt verondersteld dat de cellen in het bereid gevogelte die nu de meeste kans hebben om een onderverhitting te overleven zich bevinden in het centrum van bvb. de hamburger of de worst. Stel nu de 15 g in het centrum hiervan, dit betekent dat 1500 cellen (contaminatieniveau 100/g) potentieel overleven. De 15 g op de 100 g die in totaal verhit wordt correleert eveneens met de gemiddelde waarde van 15% in de "protected areas" die in aanmerking komen voor eventuele overleving zoals vermeld staat in het *Preliminary Report van de FAO/WHO on Risk Assessment of Campylobacter in Broiler Chickens (2002)* waarbij een distributie wordt verondersteld van 10-20%.

In dit *preliminary report* staat tevens vermeld dat ook deze "protected areas" indien het product goed verhit wordt tot 74°C uitwendig, inwendig toch ook nog een temperatuur bereikt van 60-65°C gedurende 0.5-1.5 minuten. Gezien uit literatuur blijkt dat de D-waarde bij 60°C in gevogelte < 1 minuut bedraagt wordt verondersteld dat zelfs in deze "protected areas" nog 1 log reductie optreedt en er dus overleving is niet van alle 1500 cellen in het centrum maar van 150 cellen.

De 150 cellen, die deze onderverhitting overleven, geven dus aanleiding tot een probabilliteit van infectie (indien de best fit curve van de dosis respons wordt gehanteerd) van 21,5%.

Indien het contaminatieniveau 1.000/g betreft geeft dit 1.500 cellen, die de onderverhittingsstap mogelijk overleven, en een probabilliteit van infectie van 47,6%

Indien het contaminatieniveau 10.000/g betreft geeft dit 15.000 cellen, die de onderverhittingsstap mogelijk overleven, en een probabilliteit van infectie van 67,7%

Indien het contaminatieniveau 10/g betreft geeft dit 15 cellen, die de onderverhittingsstap mogelijk overleven, en een probabilliteit van infectie van 5%

Indien het contaminatieniveau 1/g betreft geeft dit 1,5 cel, die de onderverhittingsstap mogelijk overleeft, en een probabilliteit van infectie van 0%

Conclusie Deterministische aanpak

De bovenstaande berekeningen geven voor de verschillende contaminatieniveaus aanleiding tot verschillende probabilliteit van infectie via de twee contaminatieroutes zoals vermeld in tabel 4.

Tabel 4: Probabilliteit van infectie voor verschillende *Campylobacter* contaminatieniveau's van bereide te verhitten gevogelteproducten op basis van gehakt pluimveevlees.

Contaminatieniveau	1/g	10/g	100/g	1.000/g	10.000/g
Probabilliteit van infectie					
Via kruiscontaminatie	0%	0%	0%	0%	5%
Via onderverhitting	0%	5,0%	21,5%	47,6%	67,7%
Voor het rauwe product	< 21,5	< 47,6	< 67,7		

Bij deze deterministische aanpak is uitgegaan van een aantal veronderstellingen en werd geen rekening gehouden met de variabiliteit. Met betrekking tot de interpretatie van tabel 1 moeten de volgende onzekerheden mede in rekening worden gebracht nl.

- de onzekerheid van de dosis-respons curven (er zijn maar echte meetpunten vanaf contaminatie met 1.000 cellen en er wordt vermeld dat 500 cellen mogelijks infectie kunnen veroorzaken) maar voor het geval van 150 of 15 cellen per portie zoals beschreven in het voorbeeld zijn geen concrete data. Bovendien is abstractie gemaakt van gevoelige en resistente groepen en wordt de volledige Belgische populatie als één groep beschouwd. Bovendien is er tevens variatie in het pathogeen karakter van de *Campylobacter jejuni* stammen.
- Er zijn geen cijfers beschikbaar omtrent het exacte contaminatieniveau van het bereid gevogelte, enkel 3 categorieën zijn gekend: > 100/g, > 1/25g en afwezig per 25 g.
- Er zijn geen cijfers beschikbaar met betrekking tot onderverhitting van de producten. 15% onderverhitting veronderstellen kan een overschatting zijn (misschien zijn bereide producten op basis van gevogelte minder vaak onderverhit dan volledige gevogeltekarkassen).

II PROBABILISTISCHE AANPAK

Naast de deterministische aanpak, waarbij enkel gewerkt werd met de gemiddelde waarden, werd ook de probabilistische aanpak gehanteerd waarbij variabiliteit binnen de populatie in rekening wordt gebracht. Hierbij wordt nu wel rekening gehouden met de distributies van de data, die gekend zijn voor kruiscontaminatie, onderverhitting en de dosis-respons curven. De berekeningen werden gemaakt via het @RISK programma (Palisade, UK) op basis van een aanpak geïllustreerd in figuur 6.

Figuur 6: Beschrijving van het gebruikte model in het @RISK programma.

Int. contaminatie	Contaminatie met <i>Campylobacter</i> (cfu/25g) Contaminatie met <i>Campylobacter</i> (cfu/100g)
Kruiscontaminatie	<u>De kans dat kruiscontaminatie optreedt</u> Aselect getal Als er kruiscontaminatie optreedt 1, anders 0 Aantal cellen die voor transmissie in aanmerking komen per portie Percentage van de cellen die worden overgedragen van vlees naar opp. Aantal cellen die op het oppervlak terechtkomen Percentage van de cellen die worden overdragen van opp. naar vlees Aantal cellen die terug op het vlees komen per portie als kruis contaminatie optreedt Het aantal cellen dat via kruiscontaminatie op de portie terecht komt
Onderverhitting	<u>De kans dat een portie onderverhit wordt.</u> Aselect getal. Als er onderverhitting optreedt 1, geen onderverhitting 0. De proportie van cellen die onderverhit worden en zich in de beschermde gebieden bevinden. Het aantal cellen die beschermd worden als onderverhitting optreedt Het aantal overlevende cellen in het beschermde gebied als onderverhitting is opgetreden. Het aantal overlevende cellen per portie.
Totale contaminatie	Totaal aantal cellen per portie van 100g.
Dosis respons	Kans op infectie.

Benadering 1:

Als input voor het @RISK programma werden de data, verzameld tijdens de surveillance studies, aangewend met name 9% van de monsters vertoont een contaminatieniveau > 100/g, in 24% van de monsters is *Campylobacter* aanwezig per 25 g maar in niveaus < 100/g en in 67% van de onderzochte monsters is *Campylobacter* niet aanwezig per 25 g. Door het beperkte kwantitatieve karakter van deze data, kunnen de monsters slechts verdeeld worden in 3 categorieën met name, categorie 1 (> 100/g) met 9% van de monsters, categorie 2 (> 1/25g en < 100/g) met 24% van de monsters en categorie 3 (< 1/25g) met 67% van de monsters. Deze indeling in 3 categorieën werd gehanteerd als input van het @RISK programma onder situatie 1.

Situatie 1: 9% monsters > 100/g 24% > 1/25g en < 100/g en 67% < 1/25g

In eerste instantie werden de beschikbare data omtrent contaminatiegegevens van *Campylobacter* in kippenproducten, zoals hierboven vermeld, omgezet in cumulatieve probabilliteit van contaminatie (tabel 5).

Tabel 5 :

Conc (cfu/g)	conc (cfu/25g)	Prob cumul
0	0	0
0,04	1	67%
100	2500	91%
4.000	100.000	100%

Daarnaast werden een aantal andere situaties als input voor het @RISK programma gesimuleerd, nl;

Situatie 2: 0% monsters > 100/g 33% > 1/25g en < 100/g en 67% < 1/25g

Situatie 3: 0% monsters > 100/g 9% > 10/g 24% > 1/25g en < 10/g en 67% < 1/25g

Situatie 4: 0% monsters > 10/g 33% > 1/25g en < 10/g en 67% < 1/25g

Situatie 5: 0% monsters > 10/g 9% > 1/g 24% > 1/25g en < 1/g en 67% < 1/25g

Situatie 6: 0% monsters > 1/g 33% > 1/25g en < 1/g en 67% < 1/25g

Situatie 1 tot en met 6 werden gehanteerd als input van het @RISK programma waarbij met behulp van @RISK voor iedere situatie een distributie gefit werd aan de inputdata (de inputdata wel telkens voorgesteld als cumulatieve probabiliteit van contaminatie zoals voorgesteld in tabel 5 voor situatie 1). Vervolgens werd de best passende distributie gebruikt als input voor @RISK, waarbij het programma voor elk van de situaties 10,000 iteraties heeft doorlopen. De gegenereerde output is de kans op infectie met *Campylobacter jejuni* voor een populatie wanneer die een portie bereid, verhit gevogelteprouduct consumeert. De output wordt cumulatief voorgesteld waarbij bv. het 25% percentiel de maximum kans op infectie geeft van 25% van de bevolking. De output van de simulaties via het @RISK programma voor de 6 situaties is weergegeven in tabel 6.

Tabel 6: Cumulatief risico op campylobacteriosis berekend met @RISK op basis van de input in categorieën van het contaminatieniveau met *Campylobacter jejuni* in bereid gevogelte

	situation 1	situation 2	situation 3	situation 4	situation 5	situation 6
Minimum	3,13E-06	1,26E-07	4,48E-10	0,00E+00	-1,86E-08	2,37E-09
Maximum	6,67E-01	0,247495	5,70E-02	6,47E-02	3,37E-01	3,57E-02
Mean	3,16E-02	1,60E-02	3,97E-05	2,45E-04	4,23E-04	1,16E-04
Std Deviation	8,41E-02	4,66E-02	7,25E-04	2,14E-03	7,99E-03	5,85E-04
Variance	7,07E-03	2,18E-03	5,25E-07	4,59E-06	6,38E-05	3,43E-07
Skewness	3,25E+00	3,14E+00	61,57106	1,56E+01	3,19E+01	2,68E+01
Kurtosis	1,33E+01	11,60127	4318,497	3,19E+02	1,14E+03	1,41E+03
Errors Calculated	0,00E+00	0	0	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
Mode	1,07E-03	1,51E-03	2,73E-04	0,00E+00	2,08E-09	1,09E-05
5% Perc	1,75E-04	5,29E-05	6,54E-08	0,00E+00	8,20E-09	1,81E-07
10% Perc	3,49E-04	1,07E-04	1,26E-07	2,71E-14	1,90E-08	3,73E-07
15% Perc	5,63E-04	1,68E-04	1,93E-07	1,17E-12	3,54E-08	5,79E-07
20% Perc	7,87E-04	2,33E-04	2,65E-07	1,75E-11	5,29E-08	7,98E-07
25% Perc	1,05E-03	3,18E-04	3,48E-07	1,39E-10	7,78E-08	1,06E-06
30% Perc	1,32E-03	4,15E-04	4,34E-07	7,72E-10	1,12E-07	1,37E-06
35% Perc	1,64E-03	5,19E-04	5,32E-07	2,94E-09	1,53E-07	1,71E-06
40% Perc	2,02E-03	6,30E-04	6,43E-07	1,09E-08	2,09E-07	2,12E-06
45% Perc	2,49E-03	7,72E-04	7,62E-07	3,17E-08	2,84E-07	2,57E-06
50% Perc	3,05E-03	9,34E-04	9,02E-07	8,58E-08	4,01E-07	3,13E-06
55% Perc	3,68E-03	1,12E-03	1,07E-06	2,02E-07	5,47E-07	3,78E-06
60% Perc	4,48E-03	1,34E-03	1,26E-06	4,68E-07	7,97E-07	4,65E-06
65% Perc	5,53E-03	1,62E-03	1,49E-06	1,00E-06	1,17E-06	5,68E-06
70% Perc	6,84E-03	1,99E-03	1,79E-06	2,10E-06	1,89E-06	7,10E-06
75% Perc	8,77E-03	2,50E-03	2,18E-06	4,16E-06	3,26E-06	9,18E-06
80% Perc	1,21E-02	3,20E-03	2,72E-06	8,50E-06	6,86E-06	1,25E-05
85% Perc	1,91E-02	4,58E-03	3,84E-06	1,87E-05	1,65E-05	2,03E-05
90% Perc	9,08E-02	1,20E-02	1,52E-04	4,62E-05	4,66E-05	2,40E-04
95% Perc	0,256926	0,153001	2,15E-04	1,90E-04	2,15E-04	7,16E-04

Uit tabel 6 blijkt dat vooral de wijziging van situatie 1 naar situatie 3 of 4 een aanzienlijke daling in het risico voor de populatie betekent. Dit betekent in analogie met tabel 4 van de deterministische aanpak, dat als men het contaminatieniveau van *Campylobacter* in bereide, te verhitten gevogelteprouducten kan beperken tot ca. 10/g in plaats van 100/g, dit een aanzienlijke daling van het risico zou betekenen niettegenstaande er nog altijd een risico voor campylobacteriosis zal optreden. Het verder streven naar beheersing van het contaminatieniveau tot ca. 1/g (situatie 5 en 6) zou, blijkt toch uit tabel 6, niet echt zorgen voor een bijkomende verlaging van het risico.

Opmerking: De waarden in tabel 6 zijn schattingen onderhevig aan een bepaalde onzekerheid en de range waarbinnen elk van deze waarden varieert kan verder beperkt worden door het doorlopen van meer iteraties, wat het gebruik van krachtige computers vereist.

Opmerking: De waarden in tabel 6 kunnen niet geïnterpreteerd worden als absolute waarden van risico omwille van de veronderstellingen die gemaakt zijn in de aanpak van het @RISK model en de onzekerheden van deze veronderstellingen, zoals reeds vermeld bij het besluit van de

deterministische aanpak. Deze waarden moeten dus relatief bekeken worden om de verschillende situaties relatief met elkaar te gaan vergelijken.

Benadering 2 :

Voor deze werkwijze werd aan de 3 meetpunten (die de grenzen van de categorieën bepalen) een log-normale verdeling gefit die gebruikt werd als input van het @RISK programma. Dit is in tegenstelling met de werkwijze beschreven in benadering 1 waar de distributie gekozen werd die het best aansloot met de contaminatiedata.

Deze log-normale verdeling had de volgende karakteristieken, zoals beschreven in tabel 7, namelijk $\mu = -1,4$ en $\sigma = 3,33$ wat betreft situatie 1. Van deze situatie werden situatie 2,3,4,5 en 6 afgeleid. Deze situaties houden eenzelfde gemiddelde waarde aan, maar versmallen de klokvorm van de log-normale verdeling steeds verder. Een andere mogelijke aanpak is de klokvorm van de originele curve te behouden ($\sigma = 3,33$) maar het gemiddelde te gaan verlagen met bvb. 1 log-eenheid naar $\mu = -2,4$ en dit is situatie 7 in tabel 7. Situatie 8 en 9 stemmen dan overeen met terug een versmalling van de klokvorm van de log-normale verdeling van situatie 7 (met lagere gemiddelde besmettingsgraad) nl. log-normale verdeling gedefinieerd als respectievelijk ($\mu = -2,4$ en $\sigma = 2,83$) en ($\mu = -2,4$ en $\sigma = 2,33$).

Tabel 7: Karakteristieken van de geteste log-normale verdelingen

	Situatie 1	Situatie 2	Situatie 3	Situatie 4	Sit. 5	Sit. 6	Sit. 7	Sit. 8	Sit. 9
μ van de input	-1,4	-1,4	-1,4	-1,4	-1,4	-1,4	-2,4	-2,4	-2,4
stdev van de input	3,33	2,83	2,33	2,08	1,83	1,68	3,33	2,83	2,33

Om de distributies van deze log-normale verdeling toegankelijker voor te stellen werd in tabel 8 aangegeven hoe de karakteristieken van de geteste log-normale verdelingen zich vertalen als distributies van de verschillende contaminatieniveaus van *Campylobacter*.

Tabel 8 : Percentage van stalen waarvan het contaminatieniveau boven het aangegeven contaminatieniveau ligt, voor de verschillende situaties.

>kve/g	Situatie 1	Situatie 2	Situatie 3	Situatie 4	Situatie 5	Situatie 6	Situatie 7	Situatie 8	Situatie 9
0,001	52,39	52,81	53,41	53,82	54,35	54,73	40,5	38,86	36,56
0,01	40,49	38,86	36,56	35,02	33,1	31,69	29,44	26,23	21,99
0,1	29,41	26,23	21,99	19,34	16,27	14,2	20,02	16,12	11,47
1	19,99	16,12	11,47	8,91	6,3	4,78	12,69	8,97	5,15
10	12,66	8,97	5,15	3,09	1,89	1,19	7,48	4,5	1,97
100	7,45	4,5	1,97	1,05	0,44	0,21	4,08	2,02	0,64
1.000	4,06	2,02	0,64	0,27	0,08	0,03	2,06	0,82	0,18
10.000	2,05	0,82	0,18	0,05	0,01	0	0,96	0,29	0,04
100.000	0,95	0,29	0,04	0,01	0	0	0,41	0,09	0,01
1.000.000	0,41	0,09	0,01	0	0	0	0,16	0,03	0

Zoals kan afgeleid worden uit situatie 1, 2, 3, 4, 5 en 6 houden deze allen een zelfde gemiddelde besmettingsniveau nl. 50% van alle monster heeft een besmettingsniveau van $> 0,0016$ *Campylobacter jejuni* cfu/g. Terwijl bij situatie 1 uit de geschatte log-normale verdeling blijkt dat 7,45% van de monsters een contaminatieniveau heeft van > 100 *Campylobacter jejuni* cfu/g, is het beleid in situatie 2, 3, 4, 5 en 6 erin geslaagd om het aantal monsters, dat de limiet van $>100/g$ overschrijdt, te beperken tot respectievelijk 4,5%, 1,97%, 1,05%, 0,44% en 0,21%. Bij de situaties 2 tot en met 6 wordt er dus naar gestreefd het percentage monsters met de hoogste contaminatieniveaus te beperken. In situatie 7 werd er geopteerd om het gemiddelde te gaan verlagen met bvb. 1 log-eenheid naar in dit geval dan 0,00016 cfu *Campylobacter jejuni* /g. Ook in dit geval zal het aantal monsters, dat de limiet van $>100/g$ overschrijdt, beperkt worden nl. tot 4,08%. Situatie 8 en 9 stemmen dan overeen met terug een beperking van de hoogste contaminatieniveaus van deze distributie in situatie 7 met lagere gemiddelde besmettingsgraad.

De log-normale verdelingen van situatie 1 tot en met 9 werden gehanteerd als input van het @RISK programma waarbij het programma voor elk van de situaties 10.000 iteraties liet doorlopen waarbij als output dan werd gegenereerd wat de kans is op infectie met *Campylobacter jejuni* voor een populatie wanneer deze een portie bereid, verhit gevogelteproduct consumeert en dit cumulatief voorgesteld voor een gegeven percentage van de bevolking. De output van deze laatste iteraties via het @RISK programma is weergegeven in tabel 9.

Tabel 9: Cumulatief risico op campylobacteriosis gesimuleerd met @RISK voor de verschillende situaties (verschillende log-normale verdelingen van het contaminatieniveau met *Campylobacter jejuni* in bereid gevogelte als input)

	Situatie 1	Situatie 2	Situatie 3	Situatie 4	Situatie 5	Situatie 6	Situatie 7	Situatie 8	Situatie 9
Minimum	0	0	0,00E+00	0	0	0	0,00E+00	0,00E+00	0
Maximum	0,94188	0,930931	8,61E-01	0,879173	0,391656	0,444982	9,31E-01	0,804851	0,695038
Mean	1,33E-02	6,77E-03	2,22E-03	1,32E-03	4,49E-04	2,91E-04	6,54E-03	2,25E-03	7,46E-04
Std.Deviat.	0,07972	5,21E-02	2,70E-02	2,01E-02	8,47E-03	7,08E-03	5,32E-02	2,77E-02	1,48E-02
Variance	6,35E-03	2,72E-03	7,27E-04	4,06E-04	7,17E-05	5,01E-05	2,84E-03	7,68E-04	2,20E-04
Skewness	7,6247	10,53908	17,65234	24,2089	32,12661	44,43545	10,82819	1,83E+01	3,46E+01
Kurtosis	65,8078	129,6388	363,4804	721,221	1191,452	2305,92	134,4554	391,87	1401,135
Mode	0	0,00E+00	0,00E+00	0	3,43E-11	6,42E-12	0,00E+00	0	0
5% Perc	1,05E-13	6,02E-13	3,39E-12	8,43E-12	1,85E-11	3,46E-11	8,66E-15	4,95E-14	4,03E-13
10% Perc	1,82E-12	6,84E-12	2,73E-11	5,64E-11	1,11E-10	1,65E-10	1,60E-13	6,42E-13	2,94E-12
15% Perc	1,12E-11	3,58E-11	1,11E-10	2,08E-10	3,40E-10	4,85E-10	1,04E-12	3,49E-12	1,17E-11
20% Perc	5,42E-11	1,44E-10	3,49E-10	5,33E-10	8,37E-10	1,07E-09	5,07E-12	1,40E-11	3,36E-11
25% Perc	1,90E-10	4,53E-10	9,20E-10	1,25E-09	1,86E-09	2,14E-09	2,04E-11	4,51E-11	8,21E-11
30% Perc	6,74E-10	1,22E-09	2,15E-09	2,83E-09	3,68E-09	4,10E-09	6,40E-11	1,24E-10	2,04E-10
35% Perc	2,05E-09	3,10E-09	5,19E-09	5,90E-09	6,80E-09	7,47E-09	1,93E-10	3,07E-10	4,31E-10
40% Perc	5,95E-09	7,86E-09	1,05E-08	1,17E-08	1,28E-08	1,29E-08	5,76E-10	7,43E-10	9,54E-10
45% Perc	1,54E-08	1,90E-08	2,12E-08	2,15E-08	2,30E-08	2,30E-08	1,56E-09	1,81E-09	2,04E-09
50% Perc	4,17E-08	4,39E-08	4,41E-08	4,29E-08	4,09E-08	4,04E-08	4,46E-09	4,24E-09	4,04E-09
55% Perc	1,17E-07	1,00E-07	9,00E-08	8,34E-08	7,32E-08	6,96E-08	1,12E-08	1,10E-08	8,10E-09
60% Perc	3,28E-07	2,29E-07	1,95E-07	1,65E-07	1,28E-07	1,24E-07	3,18E-08	2,54E-08	1,67E-08
65% Perc	9,52E-07	5,57E-07	3,95E-07	3,35E-07	2,40E-07	2,25E-07	9,66E-08	6,27E-08	3,60E-08
70% Perc	2,88E-06	1,58E-06	8,48E-07	6,78E-07	4,81E-07	4,05E-07	2,91E-07	1,57E-07	8,50E-08
75% Perc	9,28E-06	4,44E-06	2,06E-06	1,45E-06	9,79E-07	7,71E-07	9,55E-07	4,36E-07	2,03E-07
80% Perc	3,39E-05	1,45E-05	5,41E-06	3,57E-06	2,34E-06	1,68E-06	3,85E-06	1,41E-06	5,31E-07
85% Perc	1,55E-04	5,18E-05	1,65E-05	9,91E-06	6,25E-06	4,14E-06	1,79E-05	5,31E-06	1,74E-06
90% Perc	1,14E-03	2,70E-04	7,62E-05	3,43E-05	1,99E-05	1,39E-05	1,19E-04	2,72E-05	8,06E-06
95% Perc	2,16E-02	3,58E-03	6,27E-04	2,77E-04	1,31E-04	7,88E-05	2,11E-03	3,81E-04	6,48E-05

Op basis van benadering 2, kan uit de bovenstaande berekeningen de volgende samenvattende tabel 10 gedistilleerd worden.

Er zijn verschillende parameters om de verschillende situaties te vergelijken. Een mogelijkheid is gebruik te maken van de gemiddelde kans op infectie en de maximale kans op infectie. De gemiddelde kans op infectie is hoger dan de mediaan (maximale kans op infectie voor het 50% Perc.) omdat in de berekening van het gemiddelde de hogere kans op infectie van een klein percentage van de bevolking (nl. de bevolkingsgroep die zich in de rechter staart van de distributie bevindt) zwaarder doorweegt.

Tabel 10 : Analyse van het infectierisico berekend voor de situaties 1,3 en 5.

	Normale distributie van het contaminatieniveau (%).				Maximale kans op infectie afhankelijk van het percentage van de bevolking				
	> 1/g	> 10/g	> 100/g	> 1.000/g	Mean	50% Perc.	75% Perc.	95% Perc.	Maximum
Sit. 1	19,99	12,66	7,45	4,06	1,33E-02	4,17E-08	9,28E-6	2,16 E-02	0,942
Sit. 3	11,47	5,15	1,97	0,64	2,22 E-03 :6	4,41E-08 idem	2,06E-06 : 5	6,27 E-04 : 35	0,861 : 1,1
Sit. 5	6,3	1,89	0,44	0,08	4,49E-04 : 30	4,09E-08 idem	9,79E-07 : 10	1,31E-04 :165	0,392 : 2.4

Het is duidelijk dat de maximale kans op infectie voor ongeveer de helft van de bevolking (50% Perc.) zeer laag is (ca. 4.0 E-08) en niet wijzigt bij de verschillende situaties. Het is ook duidelijk dat de maximum kans op infectie steeds hoog blijft (0,392 tot 0,942) d.w.z. er zullen steeds een heel gelimiteerd aantal personen zijn, met een heel hoge kans op infectie ondanks wijziging in de situatie.

Echter, voor het merendeel van de bevolking (75% Perc. en zeer duidelijk voor het 95% Perc.) neemt de maximale kans op infectie aanzienlijk af. Uit de vergelijking van situatie 1 (huidige situatie) met situatie 3 (sterke limitatie van contaminatieniveau tot < 1.000/g (<1%)) en met situatie 5 (sterke limitatie van contaminatieniveau tot < 100/g (<1%)) blijkt dat het infectierisico daalt met respectievelijk een factor 5-35 en een factor 10-165 voor bepaalde groepen van de bevolking.

Dit duidt aan dat vooral de hoge contaminatieniveaus verantwoordelijk zijn voor een grotere kans op infectie voor het merendeel van de bevolking en als deze hoge contaminatieniveaus afnemen zal ook de kans op infectie afnemen.

Het moet duidelijk zijn dat de becijferde illustratie van het infectierisico in tabel 6 voor het 50% Perc., 75% Perc. en 95% Perc. de maximale kans aangeeft op infectie per consumptie en per persoon voor die bevolkingsgroep maar geen rekening houdt met de consumptiepatronen van de consument en met de verschillen in gevoeligheid voor infectie voor verschillende populatiegroepen. Het betreft steeds een maximale kans op infectie voor een bepaald percentiel. Dit betekent dat de meerderheid van de bevolking binnen deze groep een lagere kans heeft op infectie (immers binnen de groep van 90% van de bevolking heeft 75% een lagere infectiekans en 50% een nog lagere infectiekans).

Het feit dat een betere beheersing van de hogere contaminatieniveaus ook een verbetering betekent van de situatie voor de volksgezondheid komt ook tot uiting in een daling van de gemiddelde kans op infectie (6x daling van situatie 1 naar situatie 3 en 30 x daling van situatie 1 naar situatie 5). Echter, in elk van de situaties is er in de distributie nog een zeer hoog contaminatieniveau mogelijk, dat verantwoordelijk is voor de hoge maximum kans op infectie (0,392 tot 0,942).

De cijfers in tabel 10 zijn niet als absoluut te beschouwen, maar dienen relatief ten opzichte van elkaar vergeleken te worden en de verhoudingen zijn eerder te beschouwen als een indicatie van grootteorde. Het probabilistische model via @Risk brengt in tegenstelling tot de deterministische aanpak ook de variabiliteit van het contaminatieniveau, de kruiscontaminatie, onderverhitting en dosis respons mede in rekening, maar niet de onzekerheden die aanwezig zijn met betrekking tot het exacte verloop van de distributie van het contaminatieniveau en de dosis respons. De probabilistische aanpak laat wel toe verschillende situaties met elkaar te vergelijken.

In beide bovenvermelde benaderingen (1 en 2) werd het model (figuur 6) gesimuleerd met het @RISK programma (Version 4.0, Palisade, UK). Als output werd de kans op infectie met *Campylobacter jejuni* gegenereerd voor de populatie, wanneer deze een portie bereid, verhit gevogelteproduct consumeert. De output werd cumulatief voorgesteld waarbij bv. het 25% percentiel de kans op infectie geeft van 25% van de bevolking.

Vervolgens werd de optie genomen om de output op een toegankelijke manier voor te stellen. Hiertoe werden de situaties 1, 3 en 5 hernomen overeenkomstig benadering 2 (log normale distributie van contaminatiegegevens) met lichte wijziging, nl. dat in de geoptimaliseerde versie de beschikbare data

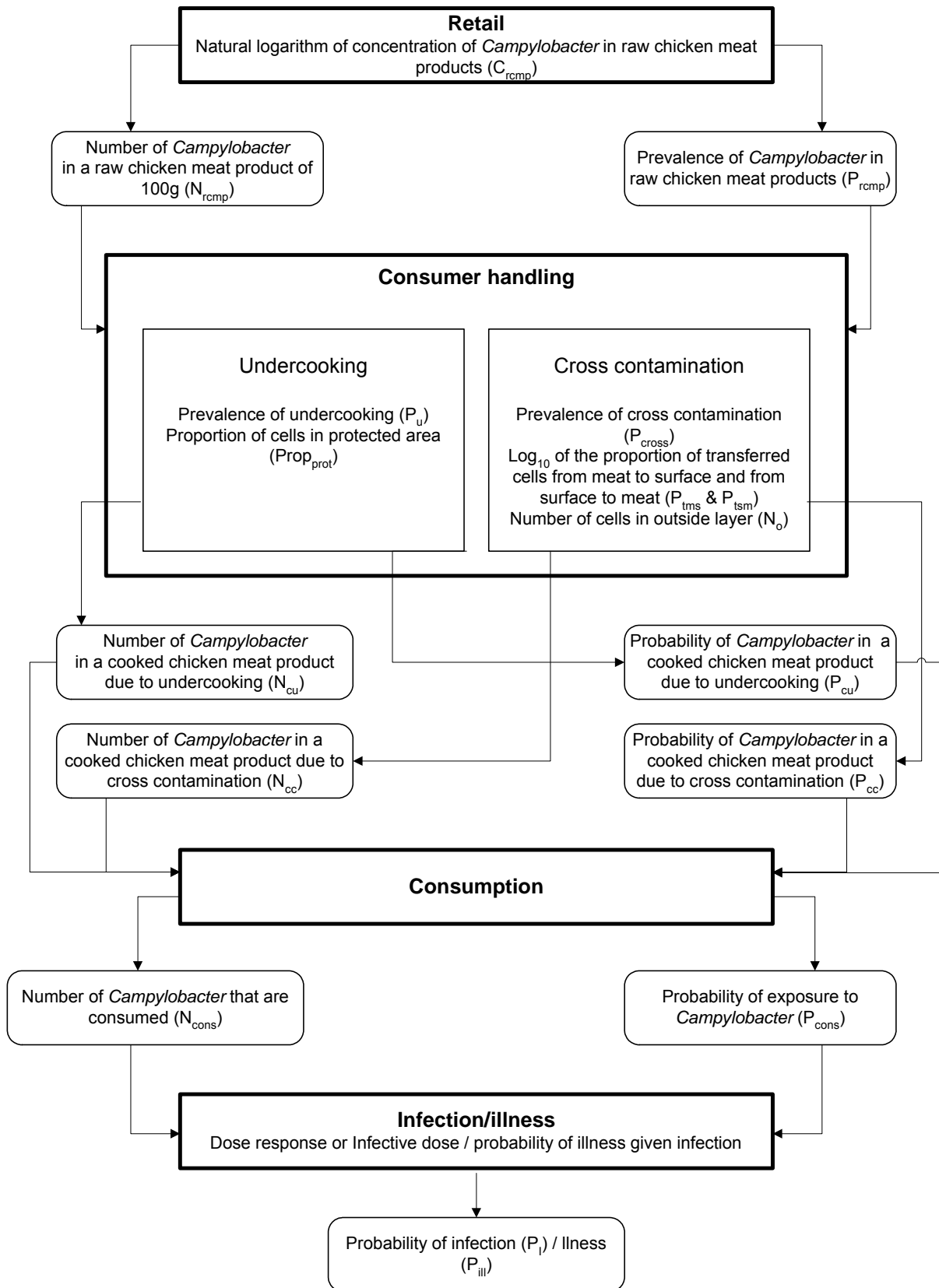
(de drie categorieën) om een distributie te fitten omgerekend werden naar cfu/g en het natuurlijk logaritme van de data werd genomen. Vervolgens werd een normale distributie gefit aan de data (dit stemt overeen met een log-normale verdeling van x , met andere woorden x is log-normaal verdeeld als $\ln x$ normaal verdeeld is). Deze aanpassingen werden doorgevoerd om in @RISK een duidelijkere voorstelling van de data te bekomen.

Tabel 10b :

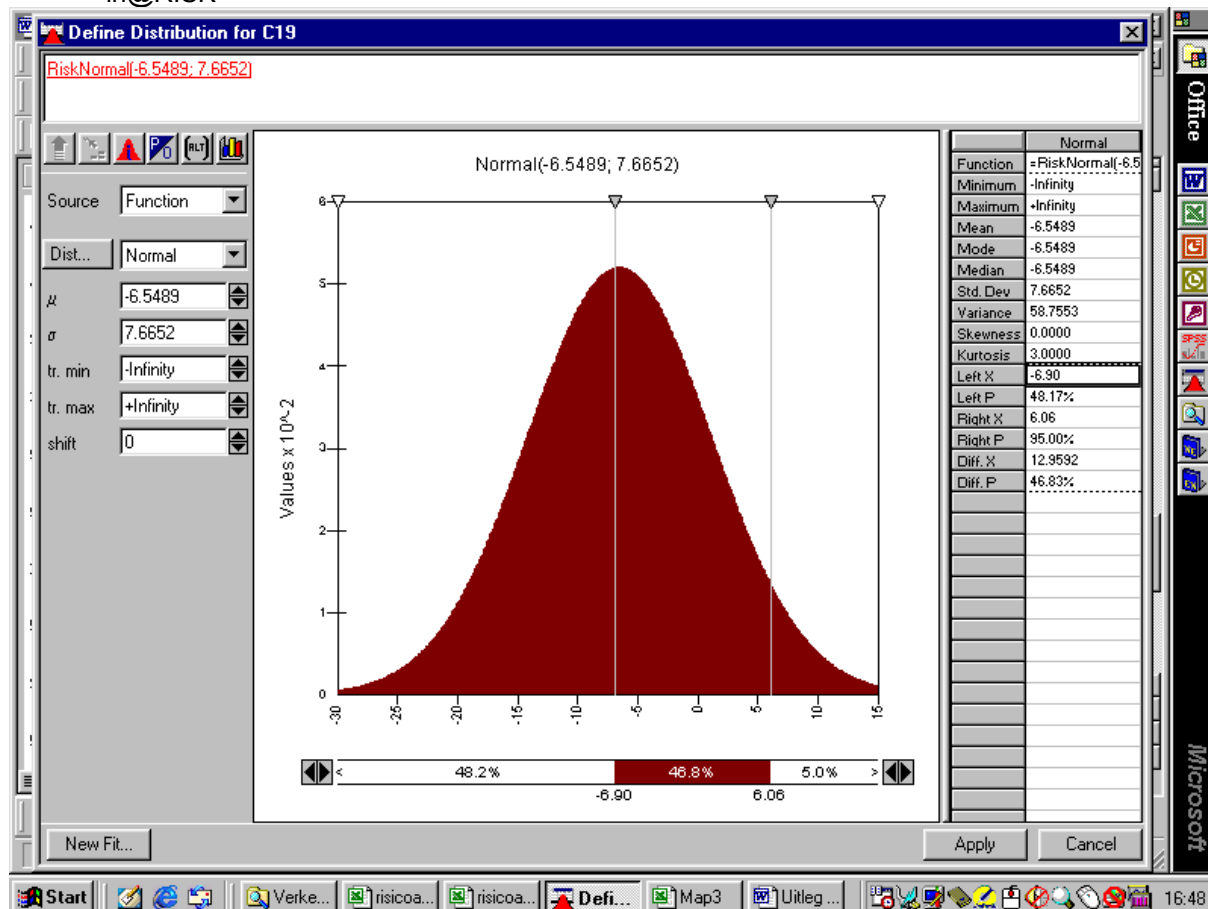
conc (cfu/25g)	conc (cfu/g)	$\ln(\text{conc}(\text{cfu/g}))$	cum prob
0			
1	0,04	-3,21887582	0,67
2.500	100	4,60517019	0,91
100.000	4000	8,29404964	1

Een normale verdeling met gemiddelde $-6,54$ en standaardafwijking $7,6652$ werd bekomen (figuur 7 en 8).

Figuur 7: Schematische voorstelling van het concept gehanteerd bij het simuleren van het risico van *Campylobacter* spp. in vleesbereidingen op basis van gevogelte met @RISK



Figuur 8: Voorstelling van de normale verdeling met gemiddelde – 6,54 en standaardafwijking 7,6652 in@RISK



De prevalentie van gecontamineerde worsten werd manueel afgeleid uit de gebruikte distributie. Uit de distributie werd het percentage worsten bepaald dat meer dan 1/100 cfu/g bevat. Dit komt overeen met minstens één cel per worst. Van het percentage worsten tussen 1/100 en 1/1.000 cfu/g bevat 10% één cel. Van het percentage worsten tussen 1/1.000 en 1/10.000 bevat 1% één cel. Etc. De prevalentie van gecontamineerde worsten werd berekend als de som van Perc (>1/100) + 0.1 * Perc (tussen 1/100 en 1/1.000) + 0.01* Perc (tussen 1/1.000 en 1/10.000). Het percentage van gecontamineerde worsten afkomstig uit de categorieën lager dan 1/10.000 werd als verwaarloosbaar beschouwd.

De risicokarakterisering werd uitgevoerd zoals voorgesteld in tabel 12 en geïllustreerd in figuur 6 met de bekomen normale verdeling als input (ln cfu/g) voor situatie 1, 3 en 5. Zoals bovenvermeld, zijn situatie 3 en 5 gebaseerd op situatie 1, maar vertonen zij een kleinere standaardafwijking.

Bovendien werd het geoptimaliseerde model gecombineerd met drie verschillende methodes beschreven in de literatuur voor de introductie van de dosis respons in de risicokarakterisering.

Methode 1: Dosis respons gebaseerd op codex document (werd reeds gebruikt in de vorige benaderingen).

$$P_{inf} = 1 - (1 + N_{cons}/59.95)^{0.21}$$

Deze methode is een probabilistische aanpak en geeft steeds probabieliteit op infectie weer gebaseerd op het Beta-Poisson model beschreven in de gevarenidentificatie (N cons is het aantal Campylobacter cellen dat opgenomen wordt bij consumptie van een portie).

Methode 2: Dosis respons 2 gebaseerd op Rosenquist et al., 2003

$$P_{inf} = 1 - (1 - P_i(1))^{N_{cons}}$$

Waarbij $P_i(1)$ de probabilliteit van infectie door 1 cel voorstelt. Deze probabilliteit volgt de bèta-verdeling met $\alpha = 0,145$ en $\beta = 7,59$. De bèta-verdeling is gebaseerd op de originele data van de "human feeding trial" van Black et al. 1988 (in Medema et al. 1996) waarop het Beta-Poisson model tevens is gebaseerd. $(1 - P_i(1))$ stelt bijgevolg de probabilliteit voor dat geen infectie optreedt door 1 cel, maar aangezien niet 1 cel wordt ingenomen maar N_{cons} , wordt dit verheven tot de macht N_{cons} . $(1 - P_i(1))^{N_{cons}}$ is dus de probabilliteit dat geen infectie optreedt door de consumptie van N_{cons} cellen. De probabilliteit van infectie door consumptie van N_{cons} cellen is bijgevolg $1 - (1 - P_i(1))^{N_{cons}}$.

Methode 3: Dosis respons 3 gebaseerd op Oscar, 2004

Daar waar voor methode 1 en 2 bij iedere iteratie (een iteratie kan opgevat worden als de consumptie van één kippenworst of kippenhamburger) de hoeveelheid ingenomen campylobacters ingeschat werd en vervolgens in de dosis respons werd gevoegd om de probabilliteit van infectie in te schatten, wordt voor methode 3 de hoeveelheid ingenomen campylobacters vergeleken met de infectieve dosis.

Aangezien de infectieve dosis verschilt van individu tot individu, werd de infectieve dosis voorgesteld door een distributie en geen vaste waarde. De gebruikte distributie was Pert (RiskPert(500; 800; 100.000.000)) die gebaseerd is op de originele data van de "human feeding trial" van Black et al. 1988 (in Medema et al. 1996) waarop het Beta-Poisson model tevens is gebaseerd.

Tabel 11 : Resultaten van inname door vrijwilligers van *C. jejuni* strain A3249. (Black et al., 1988)

Dosis	Aantal vrijwilligers	Infected	Symptomen
8×10^2	10	5	1
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

De verhouding van de ingenomen dosis en de infectieve dosis: N_{cons} / N_{inf}

Wanneer tijdens een bepaalde iteratie het aantal ingenomen *Campylobacter* hoger is dan de infectieve dosis, zal infectie optreden.

Met andere woorden tijdens een iteratie wordt uit de populatie één persoon *at random* genomen met een bepaalde gevoeligheid (deze gevoeligheid wordt voorgesteld door de infectieve dosis die tijdens deze interactie *at random* uit de infectieve-dosis-distributie wordt genomen). Deze persoon zal één kippenproduct aankopen (hij neemt m.a.w. één product uit de volledige populatie van kippenproducten, en dit wordt gekenmerkt door een initieel besmettingsniveau dat *at random* genomen wordt uit de distributie van het contaminatieniveau van de kippenproducten). Vervolgens zal hij dit bereiden en het effect van deze bereiding op het aantal aanwezige *Campylobacter* wordt in rekening gebracht en geeft uiteindelijk het aantal ingenomen *Campylobacter* door die persoon. Indien het aantal ingenomen *Campylobacter* hoger is dan de infectieve dosis voor die persoon, zal deze persoon geïnfecteerd worden. Deze redenering wordt in het model opgenomen door de verhouding van de ingenomen dosis en de infectieve dosis: N_{cons} / N_{inf} te berekenen.

Indien de verhouding groter of gelijk is aan 1, dan zal er infectie optreden. Als de verhouding kleiner is dan 1, dan zal geen infectie optreden.

Echter het is enkel in gevallen dat onderverhitting en/of kruiscontaminatie optreedt van vleesbereidingen die voldoende hoog besmet zijn (3 voorwaarden die eigenlijk op zich onafhankelijk zijn) dat deze combinatie mogelijk is en eventueel infectie effectief zal optreden.

De resultaten van de risicokarakterisering voor de 3 methoden voor de dosis respons zijn weergegeven in tabel 13. Het gebruik van de 3 verschillende methoden om de dosis respons in rekening te brengen leidde tot verschillende manieren om te komen tot een risicobeoordeling en interpretatie van de resultaten.

Tevens werd voor de situatie 1, 3 en 5 en elk van de drie verschillende methoden van dosis respons, een risicokarakterisering uitgevoerd voor het geval dat de vleesbereidingen op basis van pluimveegehakt rauw zouden worden geconsumeerd. De resultaten zijn weergegeven in tabel 14.

Tabel 12: Het mathematisch model gehanteerd bij het simuleren met @RISK voor risicokarakterisering van *Campylobacter spp* in vleesbereidingen op basis van gevogelte

Module	Variable	Description	Unit	Distribution/model
Retail	C_{rcmp}	Natural logarithm of concentration of <i>Campylobacter</i> in raw chicken meat products	Ln CFU/g	RiskNormal (μ, σ) Riskcumul(-18,4;8,29;{-3,22;4,61});{0,67;0,91})
	N_{rcmp}	Number of <i>Campylobacter</i> in a raw chicken meat product of 100g	CFU/100g	$\exp(C_{rcmp}) \times 100$
	P_{rcmp}	Prevalence of <i>Campylobacter</i> in raw chicken meat products	-	Fixed value depending on the distribution of C_{rcmp}
Undercooking	P_u	Prevalence of undercooking	-	Beta (17,93)
	O_u	Occurrence of undercooking	0 = no undercooking 1 = undercooking	If(aselect())> P_u ;0;1)
	$Prop_{prot}$	Proportion of cells in protected area	-	Risktriang(0.1;0.15;0.2)
	N_{prot}	Number of <i>Campylobacter</i> that are protected	CFU/100g	$N_{rcmp} \times Prop_{prot}$
	N_u	Number of <i>Campylobacter</i> that survive undercooking	CFU/100g	$N_{prot} \times 10\%$
	N_{cu}	Number of <i>Campylobacter</i> in a cooked chicken meat product due to undercooking	CFU/100g	If($O_u=0$;0; N_u)
	P_{cu}	Probability of <i>Campylobacter</i> in a chicken meat product due to undercooking	-	$P_{rcmp} \times P_u$
Cross contamination	P_{cross}	Prevalence of cross contamination	-	RiskPert(0.25;0.5;0.76)
	O_{cross}	Occurrence of cross contamination	0 = no cross contamination 1 = cross contamination	If(aselect())> P_{cross} ;0;1)
	$Prop_{tms}$	Log ₁₀ of the Proportion of transferred cells from meat to surface	-	RiskPert(-6;-2;-1)
	N_o	Number of cells in outside layer	CFU/100g	$N_{rcmp} \times 0.15$
	N_{tms}	Number of cells that are transferred from meat to surface	CFU/100g	$N_o \times \text{power}(10, Prop_{tms})$

	Prop _{t_{sm}}	Log ₁₀ of the Proportion of transferred cells from surface to meat	-	RiskPert(-6;-2;-1)
	N _{t_{sm}}	Number of cells that are transferred from surface to meat	CFU/100g	N _{t_{sm}} × power(10,Prop _{t_{sm}})
	N _{cc}	Number of <i>Campylobacter</i> in a cooked chicken meat product due to cross contamination	CFU/100g	If(O _{cross} =0;0;N _{t_{sm}})
	P _{cc}	Probability of <i>Campylobacter</i> in a cooked chicken meat product due to cross contamination	-	P _{rcmp} × P _{cross}
Consumption	N _{cons}	Number of <i>Campylobacter</i> that are consumed	CFU/100g	N _{cu} + N _{cc}
	P _{cons}	Propability of exposure	-	P _{cu} + P _{cc} - P _{cu} × P _{cc}
Infection 1	P _{i(D)}	Probability of infection of dose	-	1 - (1 + N _{cons} /59.95) ^{0,21}
	P _i	Probability of infection	-	P _{cons} × P _{i(D)}
	μ(P _{im})	Mean probability of infection	-	Riskmean(P _i)
	P _{ill i}	Probability of illness given infection	-	0.22
	P _{ill}	Probability of illness	-	P _i × P _{ill i}
Infection 2	P _{i(1)}	Probability of infection of 1 cell	-	RiskBeta(0.21;59.95)
	P _i	Probability of infection	-	1 - (1 - P _{i(1)}) ^{N_{cons}}
	P _{ill i}	Probability of illness given infection	-	0.22
	P _{ill}	Probability of illness	-	P _i × P _{ill i}
Infection 3	N _{inf}	Infective dose	CFU	RiskPert(500; 800; 100.000.000)
	R _i	Ratio of ingested dose and infective dose >1: infection <1: no infection	-	N _{cons} / N _{inf}
	P _{ill i}	Probability of illness given infection	-	RiskDiscrete({0;1}; {78;22})
	R _{ill}	Ratio of ingested dose and infective dose, when illness can occur >1: illness <1: no illness	-	If(P _{ill i} =1; R _i ;0)

In tabel 13 en 14 is telkens een opsplitsing gemaakt tussen de kans op infectie (aanwezigheid van *Campylobacter* in feces) en de kans op het ontwikkelen van ziekte na infectie (het effectief vertonen van symptomen van campylobacteriosis). Deze opsplitsing werd doorgevoerd omdat de gehanteerde dosis respons curve afkomstig is van een vrijwilligersstudie (Black et al. 1988 in Medema et al. 1996) waarbij werd aangetoond dat de dosis wel gekoppeld is aan infectie maar dat na infectie de vrijwilligers niet steeds de ziekte ontwikkelen en er tevens geen lineair verband was tussen de dosis en de ontwikkeling van de ziekte. Bijgevolg werd de dosis respons curve opgesteld voor infectie. Echter in acht genomen van alle resultaten van deze vrijwilligersstudie was er een kans van 22% om na inname van de infectieve dosis de ziekte te ontwikkelen. Om deze redenen werden infectie en ontwikkelen van ziekte (symptomen) van elkaar losgekoppeld.

Een samenvatting van de resultaten van tabel 13 en 14 is weergegeven in tabel 15.

De eerste benadering (Dose-Respons 1) geeft net zoals reeds bovenvermeld in tabel 6,9 en 10, met het preliminaire @RISK model, de gemiddelde kans op infectie, de minimum kans op infectie en de maximale kans op infectie voor een bepaald percentiel van de bevolking en dient geïnterpreteerd te worden zoals reeds werd vermeld voor tabel 10. Opnieuw werd vastgesteld dat bij een betere beheersing van het contaminatieniveau met inperking van de aanwezigheid van hoge aantallen campylobacters (> 1.000/g, > 100/g, > 10/g) er een daling is van de gemiddelde kans op infectie (3,5 tot 15x) en van de maximale kans op infectie van 95% van de bevolking (9 tot 29x). Ook is duidelijk dat bij rauwe consumptie van vleesbereidingen op basis van pluimveevlees onafhankelijk van de situatie (dus onafhankelijk van de distributie van het contaminatieniveau) zowel de gemiddelde kans op infectie (ca. 1/100 tot 5/100) als de maximale kans op infectie van 95% van de bevolking (ca. 3/10 tot 8/100) aanzienlijk is en zoals verwacht voor alle situaties veel hoger ligt dan de kans op infectie in geval dat de vleesbereiding verhit wordt (bij verhit gevogelte onder situatie 5 is de gemiddelde kans op infectie ca. 1/ 10.000 en de maximale kans op infectie van 95% van de bevolking ca. 2/100.000).

Tabel 13 : Risicokarakterisering via @RISK overeenkomstig schema in tabel 12 en figuur 7 met introductie van drie methoden voor dosis respons beschrijving

Situatie 1 4% > 1.000/g 7.5% > 100/g	X	Minimum X	Mean X	Maximum X	Stel X =	Perc.	Interpretatie
Dose-Respons 1	P infectie	0	2,28E-03	2,53E-01	5,71E-04	95%	Maximale kans op infectie voor 95% van de bevolking is ca 6/10.000 (0,000577)
	P ziekte/symptomen (22%)	0	5,01E-04	5,57E-02	1,26E-04	95%	
Dose-Respons 2	P infectie	0	9,78E-03	1	1	99,70%	0.3% van de bevolking heeft 100% kans op infectie 0% van de bevolking heeft met 100% zekerheid kans op ziekte
	P ziekte/symptomen (22%)	0	2,15E-03	0,22	1	100%	
Dose-Respons 3	ingenomen dosis/infectieve dosis	0	8,68E-03	62,15	1	99,96%	0.04% van de bevolking zal dosis innemen hoger dan infectieve dosis 0.01% van de bevolking zal dosis innemen hoger dan infectieve dosis en zal ziek worden
	ingenomen dosis/infectieve dosis	0	4,70E-04	4,39	1	99,99%	
	indien ziekte/symptomen optreedt						
Situatie 3 0.5% > 1.000/g 2% > 100/g	X	Minimum X	Mean X	Maximum X	Stel X =	Perc.	Interpretatie
Dose-Respons 1	P infectie	0	6,42E-04	2,07E-01	6,37E-05	95%	Maximale kans op infectie voor 95% van de bevolking is ca 6/100.000 (0,000064)
	P ziekte/symptomen (22%)	0	1,41E-04	4,56E-02	1,40E-05	95%	
Dose-Respons 2	P infectie	0	2,63E-03	1	1	99,96%	0.04% van de bevolking heeft 100% kans op infectie 0% van de bevolking heeft met 100% zekerheid kans op ziekte
	P ziekte/symptomen (22%)	0	5,79E-04	0,22	0,22	100%	
Dose-Respons 3	ingenomen dosis/infectieve dosis	0	3,38E-06	1,46E-02	1	100%	0.00% van de bevolking zal dosis innemen hoger dan infectieve dosis 0.00% van de bevolking zal dosis innemen hoger dan infectieve dosis en zal ziek worden
	ingenomen dosis/infectieve dosis	0	2,51E-07	9,97E-04	1	100%	
	indien ziekte/symptomen optreedt						
Situatie 5 0% > 1.000/g 0.5% > 100/g	X	Minimum X	Mean X	Maximum X	Stel X =	Perc.	Interpretatie
Dose-Respons 1	P infectie	0	1,46E-04	1,26E-01	1,98E-05	95%	Maximale kans op infectie voor 95% van de bevolking is ca 2/100.000 (0,000020)
	P ziekte/symptomen (22%)	0	3,20E-05	2,78E-02	4,36E-06	95%	
Dose-Respons 2	P infectie	0	5,09E-04	0,94	1	100%	0 % van de bevolking heeft 100% kans op infectie 0% van de bevolking heeft met 100% zekerheid kans op ziekte
	P ziekte/symptomen (22%)	0	1,12E-04	0,21	0,21	100%	
Dose-Respons 3	ingenomen dosis/infectieve dosis	0	1,31E-07	3,97E-04	1	100%	0.00% van de bevolking zal dosis innemen hoger dan infectieve dosis 0.00% van de bevolking zal dosis innemen hoger dan infectieve dosis en zal ziek worden
	ingenomen dosis/infectieve dosis	0	7,50E-08	3,97E-04	1	100%	
	indien ziekte/symptomen optreedt						

Tabel 14: Risicokarakterisering via @RISK van de consumptie van rauwe vleesbereidingen op basis van pluimveevlees zonder voorafgaandelijke verhittingstap met introductie van drie methoden voor dosis respons beschrijving

Situatie 1	X	Minimum X	Mean X	Maximum X	Stel X =	Perc.	Interpretatie
4% > 1.000/g 7.5% > 100/g							
Dose-Respons 1	P infectie	1,37E-12	5,27E-02	3,2E-01	0,288071	95%	Maximale kans op infectie voor 95% van de bevolking is ca 3/10 (0,288071)
	P ziekte/symptomen (22%)	3,02E-13	1,16E-02	7,04E-02	6,34E-02	95%	
Dose-Respons 2	P infectie	0	1,41E-01	1	1	93,5%	6,5% van de bevolking heeft 100% kans op infectie
	P ziekte/symptomen (22%)	0	3,09E-02	0,22	0,22	100%	0% van de bevolking heeft met 100% zekerheid kans op ziekte
Dose-Respons 3	ingenomen dosis/infectieve dosis	0	4,87E-03	23,89	4,88E-03	99,96%	0.04% van de bevolking zal dosis innemen hoger dan infectieve dosis
	ingenomen dosis/infectieve dosis indien ziekte/symptomen optreedt	0	4,15E-04	0,84	7,28E-06	100%	0% van de bevolking zal dosis innemen hoger dan infectieve dosis en zal ziek worden
Situatie 3	X	Minimum X	Mean X	Maximum X	Stel X =	Perc.	Interpretatie
0.5% >1.000/g 2% > 100/g							
Dose-Respons 1	P infectie	3,94E-13	2,31E-02	0,362061	0,169625	95%	Maximale kans op infectie voor 95% van de bevolking is ca 6/100.000 (0,000064)
	P ziekte/symptomen (22%)	8,67E-14	5,08E-03	7,97E-02	3,73E-02	95%	
Dose-Respons 2	P infectie	0	6,03E-02	1	1	99%	1% van de bevolking heeft 100% kans op infectie
	P ziekte/symptomen (22%)	0	1,33E-02	0,22	0,22	100%	0% van de bevolking heeft met 100% zekerheid kans op ziekte
Dose-Respons 3	ingenomen dosis/infectieve dosis	0	3,88E-03	21,87	1	99,97%	0.03% van de bevolking zal dosis innemen hoger dan infectieve dosis
	ingenomen dosis/infectieve dosis indien ziekte/symptomen optreedt	0	2,37E-03	21,87	1	99,99%	0.01% van de bevolking zal dosis innemen hoger dan infectieve dosis en zal ziek worden
Situatie 5	X	Minimum X	Mean X	Maximum X	Stel X =	Perc.	Interpretatie
0% >1.000/g 0.5% > 100/g							
Dose-Respons 1	P infectie	2,64E-11	1,16E-02	0,3094959	7,91E-02	95%	Maximale kans op infectie voor 95% van de bevolking is ca 2/100.000 (0,000020)
	P ziekte/symptomen (22%)	5,80E-12	2,55E-03	6,81E-02	1,74E-02	95%	
Dose-Respons 2	P infectie	0	3,34E-02	1	1	99,8%	0.2 % van de bevolking heeft 100% kans op infectie
	P ziekte/symptomen (22%)	0	7,35E-03	0,22	0,22	100%	0% van de bevolking heeft met 100% zekerheid kans op ziekte
Dose-Respons 3	ingenomen dosis/infectieve dosis	0	1,07E-04	0,598	1	100%	0% van de bevolking zal dosis innemen hoger dan infectieve dosis
	ingenomen dosis/infectieve dosis indien ziekte/symptomen optreedt	0	6,80E-05	0,598	1	100%	0% van de bevolking zal dosis innemen hoger dan infectieve dosis en zal ziek worden

Tabel 15 :Samenvatting van de resultaten met betrekking tot de risicokarakterisering via @RISK van de consumptie van rauwe vleesbereidingen op basis van pluimveevleesgehakt met en zonder voorafgaandelijke verhittingsstap met introductie van drie methoden voor dosis respons beschrijving.

	Gemiddelde kans op infectie	Maximum kans op infectie	95% Perc (kans op infectie)
Dose-Respons 1			
Situatie 1 (verhit)	2,28E-03	2,53E-01	5,71E-04
Situatie 1 (rauw)	5,27E-02 (x 23 vs verhit)	3,20E-01 (x 1,26 vs verhit)	0,288071 (x 504 vs verhit)
Situatie 3 (verhit)	6,42E-04 (:3.5 vs situat 1)	2,07E-01	6,37E-05 (:9 vs situat 1)
Situatie 3 (rauw)	2,31E-02 (x 36 vs verhit)	0,362061 (x 1,33 vs verhit)	0,169625 (x 2663 vs verhit)
Situatie 5 (verhit)	1,46E-04 (:15 vs situat 1)	1,26E-01	1,98E-05 (:29 vs situat 1)
Situatie 5 (rauw)	1,16E-02 (x 79 vs verhit)	0,3094959 (x 2,45 vs verhit)	7,91E-02 (x3995 vs verhit)
Dose-Respons 2			
Interpretatie			
Situatie 1 (verhit)	0.3% van de bevolking heeft 100% kans op infectie		
Situatie 1 (rauw)	6,5% van de bevolking heeft 100% kans op infectie		
Situatie 3 (verhit)	0.04% van de bevolking heeft 100% kans op infectie		
Situatie 3 (rauw)	1% van de bevolking heeft 100% kans op infectie		
Situatie 5 (verhit)	0 % van de bevolking heeft 100% kans op infectie		
Situatie 5 (rauw)	0,2 % van de bevolking heeft 100% kans op infectie		
Dose-Respons 3			
Interpretatie			
Situatie 1 (verhit)	0,04% van de bevolking zal dosis innemen hoger dan infectieve dosis		
Situatie 1 (rauw)	0,04% van de bevolking zal dosis innemen hoger dan infectieve dosis		
Situatie 3 (verhit)	0% van de bevolking zal dosis innemen hoger dan infectieve dosis		
Situatie 3 (rauw)	0,03% van de bevolking zal dosis innemen hoger dan infectieve dosis		
Situatie 5 (verhit)	0% van de bevolking zal dosis innemen hoger dan infectieve dosis		
Situatie 5 (rauw)	0% van de bevolking zal dosis innemen hoger dan infectieve dosis		

Ter herinnering :				
	Normale distributie van het contaminatieniveau			
	> 1/g	> 10/g	> 100/g	> 1.000/g
Situatie 1	19,99 %	12,66 %	7,45 %	4,06 %
Situatie 3	11,47 %	5,15 %	1,97 %	0,64 %
Situatie 5	6,3 %	1,89 %	0,44 %	0,08 %

De tweede benadering (Dose-Respons 2) en derde benadering (Dose Respons 3) geven op een meer toegankelijke manier de mogelijkheid om de resultaten te interpreteren.

Daar waar voor benadering 1 de maximum kans op infectie steeds lager was dan 1 (zijnde 100% kans op infectie), wordt met benadering 2 wel een maximum van 1 bereikt. Via de @RISK testresultaten kan dan afgeleid worden, welk percentiel van de populatie met 100% zekerheid geïnfecteerd wordt indien er consumptie is van een vleesbereiding op basis van gehakt pluimveevlees (verhit of onderverhit). Hieruit blijkt dat naarmate het contaminatieniveau met *Campylobacter* beter wordt beheerst en aanwezigheid van hoge aantallen beperkt wordt, er een kleinere percentage van de bevolking met 100% kans geïnfecteerd zal worden (pas op : infectie ≠ ziekte/symptomen). In situatie 5 heeft zelfs 0% van de bevolking 100% kans op infectie wat niet wil zeggen dat geen infectie meer zal plaatsvinden bij een deel van de populatie, maar dit kan niet meer gezegd worden met 100% zekerheid. Hier is opnieuw duidelijk dat indien de desbetreffende vleesbereiding wordt geconsumeerd zonder voorafgaandelijke verhitting een groter deel van de bevolking met 100% zekerheid zal geïnfecteerd worden.

Bij de derde benadering kan de verhouding van ingenomen en infectieve dosis (X) wel hoger zijn dan 1, en in dit geval zal inderdaad infectie optreden indien de X groter wordt dan 1. Via de @RISK testresultaten kan dan afgeleid worden, vanaf welk percentiel van de populatie de $X > 1$; met andere woorden welk deel van de populatie kans loopt om via consumptie van een vleesbereiding op basis

van gehakt pluimveevlees (verhit of onderverhit) meer *Campylobacter* op te nemen dan de infectieve dosis en dus een kans heeft (van 22%) om ook ziek te worden.

Hieruit blijkt opnieuw, net als bij benadering 1 en 2, dat naarmate het contaminatieniveau met *Campylobacter* beter wordt beheerst en aanwezigheid van hoge aantallen beperkt wordt, een kleinere percentage van de bevolking een dosis zal opnemen die hoger is dan de infectieve dosis (pas op : infectie \neq ziekte/symptomen). In situatie 5 zal zelfs 0% van de bevolking een dosis opnemen hoger dan de infectieve dosis.

Bij de benadering 3 zijn de verschillen tussen de verschillende situaties en ook het verschil tussen verhit en onverhit niet of veel minder uitgesproken. Ook Oscar (2004) die deze derde methode gebruikte om een risicobeoordeling uit te voeren met betrekking tot *Salmonella* in kippenkarkassen vond aanvankelijk bij een eerste run (10.000 iteraties) van het model 0% risico. Echter, in praktijk zijn wel een aantal gevogeltekarkassen (in ons geval vleesbereidingen) drager van aantallen *Salmonella* (of in ons geval aantallen *Campylobacter*) die hoger zijn dan de minimum dosis voor infectie (10 veronderstelt voor *Salmonella*, in ons geval 500 veronderstelt voor *Campylobacter*) maar net in de iteratie waar deze aantallen *Salmonella* (of *Campylobacter*) voorkomen werd tijdens de sampling uit de Pert distributie voor dosis respons (RiskPert(500; 800; 100.000.000)) per toeval een infectieve dosis gekozen hoger dan de minimum infectieve dosis waardoor de aantallen waaraan de consument is blootgesteld in dit specifieke geval lager ligt dan de infectieve dosis.

Hierdoor wordt bijgevolg besloten dat er geen infectie optreedt, maar het had ook anders kunnen uitdraaien. Dus het is wel mogelijk dat bepaalde vleesbereidingen soms aanleiding geven tot infectie maar in dit *at random* sampling van de Pert distributie gebeurde het nu toevallig niet. Zoals Oscar (2004) aantoonde voor de oefening met *Salmonella* in kippenkarkassen werd het risico wel aangetoond indien veel meer iteraties worden gemaakt tijdens de run van @RISK. In het geval van Oscar (2004) waren er aanvankelijk 0 gevallen van salmonellosis per 10.000 kippen maar 1,7, 29 en 83 gevallen wanneer met dezelfde input en model benadering het @RISK programma vier maal werd doorlopen met 1.000.000 iteraties.

Dit indiceert dat ook het huidige aantal genomen iteraties (10.000) niet voldoende is om te differentiëren tussen de verschillende situaties en het huidige @RISK model met 10.000 iteraties voor de derde methode niet toelaat om aan besluitvorming te doen.

VI. Aanbevelingen in verband met de gestelde vragen.

Op basis van de gemaakte veronderstellingen en op basis van de beperktheid van het voorhanden zijn van kwantitatieve meetgegevens in verband met de aantallen *Campylobacter* aanwezig in vleesbereidingen op basis van pluimveevleesgehakt, werd zowel een deterministische aanpak als een probabilistische aanpak van risicobeoordeling uitgewerkt. In het geval van een probabilistische aanpak werden verschillende benaderingen aangewend met betrekking tot de input van de distributie van het contaminatieniveau en het vertalen van de dosis-respons gegevens in de output.

Onafhankelijk van de aanpak en de praktische uitwerking ervan werd op basis van steeds dezelfde veronderstellingen bevonden dat de kans op infectie of de kans op ziekte significant afneemt naarmate het contaminatieniveau met *Campylobacter* beter wordt beheerst en aanwezigheid van hoge aantallen beperkt wordt. Samengevat wordt dit duidelijk gemaakt in tabel 4 voor de deterministische aanpak en tabel 10 en tabel 15 voor de probabilistische aanpak.

De cijfers in deze drie tabellen zijn niet als absoluut te beschouwen maar eerder om relatief ten opzichte van elkaar te vergelijken en de verhoudingen zijn eerder te beschouwen als een indicatie van grootteorde. De waarden in de tabellen zijn bovendien schattingen onderhevig aan een bepaalde onzekerheid en de range waarbinnen elk van deze waarden varieert kan verder beperkt worden door het doorlopen van meer iteraties, wat het gebruik van krachtige computers vereist.

Het probabilistische model van deze studie brengt in tegenstelling tot de deterministische aanpak ook de variabiliteit van het contaminatieniveau, de kruiscontaminatie, onderverhitting en dosis respons mede in rekening maar niet de onzekerheden die aanwezig zijn met betrekking tot het exacte verloop van distributie van het contaminatieniveau en de dosis respons. De probabilistische aanpak laat wel toe verschillende situaties met elkaar te vergelijken.

Globaal kan besloten worden op basis van de uitgevoerde risicobeoordelingen, dat bij een terugbrengen van de huidige geschatte distributie van contaminatieniveau ($12.5\% > 10/g$ en $7.5\% > 100/g$) tot een distributie met eliminatie van *samples* met $> 1.000/g$ ($< 1\%$) en beperking van contaminatieniveaus van $> 100/g$ (max. 2%) en $> 10/g$ (max. 5%) een positieve bijdrage tot de volksgezondheid zou geleverd worden en een daling van de kans op infectie zou bekomen worden in de grootteorde van 6 x (3.5-35x). Indien nog een verdere controle van de distributie van het contaminatieniveau zou nagestreefd worden en een distributie met eliminatie van *samples* met $> 100/g$ ($< 1\%$) en beperking van contaminatieniveaus van $> 10/g$ (max. 2%) zou nagestreefd worden dan zou dit op basis van de uitgevoerde risicobeoordelingen een daling van de kans op infectie in de grootteorde van 30 x (15-165x) ten opzichte van de huidige situatie veroorzaken.

Er kan tevens besloten worden dat indien vleesbereidingen op basis van pluimveevleesgehakt rauw geconsumeerd worden de kans op infectie ten opzichte van het te verhitten product aanzienlijk stijgt (grootteorde 20 tot 80x). Dit betekent niet alleen dat stellen van normen op zich geen voldoende garantie geeft voor de bescherming van de volksgezondheid maar ook dat communicatie naar de consument noodzakelijk is om deze te wijzen op de gevaren van het consumeren van rauwe producten en de noodzaak tot goede verhitting van dergelijke producten.

VII. Perspectieven & nood aan onderzoek

Het model berust op een input van beperkte semi-kwantitatieve data (3 categorieën van besmettingsniveau werden vastgesteld). Aan deze data (ln cfu/g) werd een normale verdeling gefit, die als input van het model gebruikt werd (tabel 8). Aangezien het fitten van de distributie gebeurde aan slechts 3 datapunten bestaat er een grote onzekerheid. Er is nood aan echte kwantitatieve gegevens bekomen door tellingen en niet door aan-/afwezigheid per hoeveelheid product.

Bovendien werd, bij gebrek aan eigen data voor bvb. incidentie en mate van onvoldoende verhitting van de geïmpliceerde producten (vleesbereidingen op basis van pluimveevlees), incidentie en mate van kruiscontaminatie die optreedt bij deze producten tijdens bereiding, specifieke informatie omtrent hygiënische praktijken bij de Belgische consument, enz., zich gebaseerd op informatie voorhanden in het Codex document die echter geen betrekking hebben op vleesbereidingen op basis van pluimveevlees en een verzameling zijn van de voorhanden zijnde internationale literatuur. Bij voorkeur dienen eigen Belgische gegevens met betrekking tot dit type manipulaties en voor dit type product gehanteerd te worden voor het verbeteren van het model.

In het model werd er gesteld dat *Campylobacter* niet vermenigvuldigt noch afsterft tijdens distributie en opslag. Dit gebaseerd op de algemene groeivoorwaarden van *Campylobacter* (minimum temperatuur voor groei zijnde 30°C) en uitgaande van "worst case scenario" dat geen afsterving optreedt. Het is echter gekend dat overleving van *Campylobacter* sterk wordt beïnvloed door wateractiviteit, atmosfeer en temperatuur.

Tevens moet er op gewezen dat er slechts beperkte experimentele gegevens voorhanden zijn om een dosis-respons curve voor *Campylobacter* vast te leggen (beperkt aantal data en onvoldoende inzicht in stamafhankelijkheid) wat betekent dat een grote onzekerheid vasthangt aan de blootstelling en dosis respons in termen van infectie en ziekte (ontwikkelen van symptomen). Bovendien is het niet duidelijk of in België het betreffende product (vleesbereidingen op basis van gehakt pluimveevlees) effectief een relevante oorzaak is van voedselgebonden campylobacteriosis. Momenteel is in België (kwantitatief) geen informatie voorhanden omtrent de bijdrage van diverse transmissieroutes en risicofactoren in het ontwikkelen van campylobacteriosis bij de mens. De preliminaire risicobeoordeling is dus louter als preventieve maatregel te beschouwen en de gegenereerde cijfers niet als absoluut te beschouwen maar louter als indicatief om verschillende situaties relatief met elkaar te vergelijken.

In het kader van de problematiek van de prevalentie van *Campylobacter* in vleesbereidingen op basis van gehakt pluimveevlees en als dit verslag gebruikt wordt om microbiologische criteria te bepalen, moet men :

1- **zich bewust zijn van de onzekerheid van het resultaat**, bij het toetsen van microbiologische criteria. Meetonzekerheid is afhankelijk van de gekozen testmethode, het contaminatieniveau waarop getoetst wordt (meetonzekerheid zal hoger zijn in de nabijheid van de detectielimiet van de testmethode) en wordt tevens voor een stuk bepaald door de omstandigheden waarop de testmethode wordt uitgevoerd (laboratoriumafhankelijk).

2- **het toezicht op het vlak van de menselijke epidemiologie verbeteren** voor wat betreft de « outbreaks » van voedselcontaminaties te wijten aan *Campylobacter* en, in dat opzicht, dient het uitvoeren van enquêtes op nationaal niveau bevorderd te worden.

3- **een toezichtprogramma op voedingsmiddelen uitwerken**, met kwantitatieve gegevens die het toelaten de contaminatie jaar in jaar uit op te volgen, de input van het model te verbeteren en op te treden en gerichte beslissingen te treffen.

4- **zich bewust zijn dat men het belang van de kruiscontaminatie, van de onderverhitting niet kan beoordelen**. Men beschikt in België over geen precieze en bruikbare informatie over de werkelijke contaminatie, de werkelijke huishoudelijke praktijken, etc... Gedetailleerde en volledige

informatie omtrent het verbruik en de inname van rauw pluimveevlees op nationaal vlak (bereidingen van het type *tartaartje*) zouden ook moeten ingezameld worden.

5- In dezelfde gedachtegang **noteren dat de voorlichting van de consument en de vorming, de wetenschappelijke opleiding in verband met hygiëne en contaminatierisico's van het personeel in de betrokken beroepssectoren zouden moeten worden bevorderd.**

6- voor de verdere optimalisatie van het model, **meer informatie verzamelen over overleving van het pathogeen gedurende opslag en distributie en meer specifiek het effect van de volgende behandelingen (kwantitatief) evalueren op de overleving van *Campylobacter*** : type koelsysteem aangewend na slachten, effect van invriezen, al dan niet verpakken en tijdstip ervan, gemodificeerde atmosfeerverpakking, bewaartijd en -omstandigheden, controle van kruiscontaminatie.

7- **zich bewust te zijn dat** kwantitatieve risicobeoordeling een aantal voordelen biedt. Verschillende scenario's kunnen op een eenvoudige manier worden getest. Vergelijkingen (eventueel in relatieve vorm) zijn mogelijk. Echter kwantitatieve risicobeoordeling heeft ook een aantal nadelen. **Dat is data-intensief en mathematische vaardigheden zijn vereist.** In het huidige model is het ontbreken van een uitgebreide dataset beperkend. Tevens worden er een aantal veronderstellingen gemaakt. Het is niet altijd duidelijk wat de invloed van een beperkte dataset en de impact van bepaalde veronderstellingen is op de output van het model. Besluitvorming is niet steeds evident rekening houdend met onzekerheid en variabiliteit en het uiteindelijk mathematisch complexe karakter van een complete risico-beoordeling. De methodiek van risicobeoordeling is wetenschappelijk nog volop in ontwikkeling (vandaar terminologie "preliminaire risicobeoordeling").

Dit ligt aan de basis van **de nood aan een kritische, objectieve en stapsgewijze analyse** van de verschillende deelaspecten van de kwantitatieve risicobeoordeling met het oog op het achterhalen van de impact van de gemaakte veronderstellingen, van de al dan niet beschikbaarheid van gedetailleerde data, van de keuze van de mathematische modellen, etc. op de uitkomst. Dit moet de robuustheid van de systematiek belichten, kritische stappen in het proces identificeren alsook de noodzaak, de wijze en vooral een rangschikking naar prioriteit van dataverzameling in de verschillende stappen aantonen. Dergelijke *analyses van de risico-analyse*, meer bepaald, *analyse van de risicobeoordeling*, in België (maar ook Europees) zijn nog te weinig op de onderliggende mogelijkheden geëxploiteerd en dient aanbeveling om fundamenteel onderzocht te worden.

VIII Bronnen en bibliografische referenties.

a. Tijdschriften, handleidingen en verslagen :

- AFSSA, Document sur Appréciation des risques alimentaires liés aux *Campylobacters* Application au couple poulet / *Campylobacter jejuni*. (France), 12.02.2004
<http://www.afssa.fr/Ftp/afssa/22208-I.pdf>
- FAO/WHO, Preliminary Report of the Joint FAO/WHO workgroup on Risk Assessment of *Campylobacter* in broiler chickens, 5-9 august 2002.
- FAO/WHO, Identification et caractérisation des dangers et évaluation de l'exposition liés à *Campylobacter* spp. dans les poulets et à *Vibrio* spp. dans les produits de la pêche, Juillet 2001.
- Joint FAO/WHO Food Standards Programme Codex Committee on Food Hygiene Thirty-fifth Session Orlando, U.S.A., 27th January 2003
Discussion Paper on Risk Management Strategies for *Campylobacter* spp. in Poultry (Prepared by the Netherlands, with the assistance of Australia, Belgium, Denmark, Finland, Norway, UK, US and the European Commission).
- International handbook of foodborne pathogens, M.D. Miliotis & J.W. Bier, Marcel Dekker, 2003.
- Laboratoire national de référence en microbiologie des denrées alimentaires d'origine animale pour l'Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire (LNR), Rapport de surveillances des agents zoonotiques dans les denrées alimentaires d'origine animale, 2003.
<http://mda04.fmv.ulg.ac.be>.
- Risk assessment of *Campylobacter* spp. in broiler chickens and *Vibrio* spp. in seafood. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation Bangkok, Thailand 5-9 August 2002.
- Recommendations on the presentation of data for assessing the safety of microorganisms used in the feed/food sector – new or modified strains - a different application of strains already in use (AFSSA, nov.2002).
- Report on Trends and sources of zoonotic agents in the European Union and Norway, 2001.
- Food Standards Agency - UK, ACMSF report on *Campylobacter*, 27.02.2003
<http://www.foodstandards.gov.uk/foodindustry/Consultations/ukwideconsults/acmsfcampylobacter>
- Seminar on Risk management and Risk assessment for CCFH – Risk assessment of *Campylobacter* spp. in broiler chickens. Aamir M.Fazil, Health Canada. (25 jan 2003)

b. Artikelen :

- BERNDTSON et al. *Campylobacter* evidence on a chicken farm and the spread of *Campylobacter* during the slaughter process. *Int.J. Food Microbiology*, 1996, **32(1-2)**, 35-47.
- BJARKE C., SOMMER H., ROSENQUIST H. & NIELSEN N. Risk assessment on *Campylobacter jejuni* in chicken products. *Danish veterinary and food administration, Institute of food safety and toxicology, Division of microbiological safety*, Jan 2001.
- BLACK et al. Experimental *Campylobacter jejuni* infection in humans, *J. Infect. Dis.*, 1988, **157**, 472-479.
- BOGAARDT MJ ; MANGEN MJJ ; WIT GA ; NAUTA MJ ; HAVELAAR AH Controlling *Campylobacter* in the chicken meat chain - Towards a decision support model. *RIVM rapport 250911005 . Beheersing van Campylobacter in de kippenvleesketen naar een beslissingsondersteunend model* (2004).

- CHAN et al., Survival of clinical and poultry-derived isolates of *Campylobacter jejuni* at a low temperature (4°C) *Applied environmental microbiology*, 2003, **67(9)**,4186-4191.
- DUFRENNE et al. Quantification of the contamination of chicken and chicken products in the Netherlands with *Salmonella* and *Campylobacter*. *J. Food Prot.* 2001 Apr.,**64(4)**, 538-541.
- EVANS AS, BRACHMAN PS, *Bacterial Infections of Humans*, 3rd ed., Plenum Medical Book Company, New York, 1988.
- EVERS E.G., NAUTA M.J., VANDER FELLS-KLERX, DE JONG H.J, M.C.M. 2002. Rapport d'avancement modèle de risque. Rapport RWM dans le cadre de la partie de projet 3 (modèle de risque) du projet CARMA (*Campylobacter* Risk management and Assessment) V/2509 11.
- JORGENSEN et al. Prevalence and numbers of *Salmonella* and *Campylobacter* spp. on raw, whole chickens in relation to sampling methods. *Int.J.Food Microbiology*,2002,**76(1-2)**,151-164.
- LAKE R., HUDSON A., CRESSAY P., NORTJE G. Risk profile : *Campylobacter jejuni* / coli in poultry (whole and pieces),*New Zealand Food Safety Authority*, june 2003.
- MEDAMA G.J., TEUNIS P.F.M., HAVELAAR A.H., HAAS C.N. Assessment of the dose-response relationship of *Campylobacter jejuni*. *International Journal of Food Microbiology*,1996,**30**,101-111.
- MIWA et al. *Campylobacter jejuni* contamination on broiler carcasses of *C.jejuni*-negative flocks during processing in a Japanese slaughterhouse. *Int.J.Food.Microbiology*,2003,**84**,105-109.
- OSCAR T.P. A quantitative risk assessment model for *Salmonella* and whole chickens *International Journal of Food Microbiology*,2004,**93**,231-247.
- RIVOAL et al., Molecular characterization of the diversity of *Campylobacter* spp. Isolates collected from a poultry slaughter house : analysis of cross-contamination. *Let.Appl.Microbiol.*,1999 Dec;**29(6)**,370-4.
- ROSENQUIST H., NIELSEN N.L., SOMMER.H.M., NORRUNG B., CHRISTENSEN B.B.*International Journal of Food Microbiology*, 2003, **83**, 87-103.
- SANCHEZ et al.Microbial profile and antibiotic susceptibility of *Campylobacter* spp. and *Salmonella* spp. in broilers processed in air-chilled and immersion-chilled environments. *J. Food Prot.* 2002 June, **65(6)**,948-56.
- SOLOW et al.Effect of temperature on viability of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* on raw chicken or pork skin, 2003 Nov; **66(11)**, 2023-31.
- STERN et al. *Campylobacter* spp. in Icelandic poultry operations and human disease, *Epidemiol.Infect.*2003,**130**,23-32.
- UYTENDAELE et al. Incidence of *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* and *Listeria monocytogenes* in poultry carcasses and different types of poultry products for sale on the Belgian retail market. *J Food Prot.* 1999 Jul ; **62(7)**,735-40.
- YOON et al.Development of predictive models for the survivals of *Campylobacter jejuni* (ATCC 43051) on cooked chicken breast patties and in broth as a function of temperature. *J. Food Prot.* 2004,**67(1)**, 64-70.
