

# Surveillance van **zoönose-verwekkers** in de veehouderij

ANNIKA VAN ROON<sup>1</sup>, MARIEKE OPSTEEGH<sup>1</sup>, MENNO VAN DER VOORT<sup>2</sup>, OLAF STENVERS<sup>2</sup>, BEN WIT<sup>2</sup>, CINDY DIERIKX<sup>1</sup>, CATHARINA MAASSEN<sup>1</sup>, JOKE VAN DER GIESSEN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>RIVM, CENTRUM INFECTIEZIEKTENBESTRIJDING, POSTBUS 1, 3720 BA BILTHOVEN  
<sup>2</sup>NVWA, POSTBUS 43006, 3540 AA UTRECHT

Iedere lidstaat in Europa moet de prevalentie van **zoönoseverwekkers** bij landbouwhuisdieren jaarlijks melden aan de European Food Safety Authority (EFSA).

**Iedere lidstaat in Europa moet de prevalentie van zoönoseverwekkers bij landbouwhuisdieren jaarlijks melden aan de European Food Safety Authority (EFSA). In Nederland doet de Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit (NVWA) dit. In 2013 is het Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM) in opdracht van en in samenwerking met de NVWA gestart met een vernieuwd zoönose surveillanceprogramma bij landbouwhuisdieren.**

Het belangrijkste verschil met andere surveillanceprogramma's is dat er breder binnen de betreffende diersector naar zoönoseverwekkers wordt gekeken dan alleen naar *Salmonella* en *Campylobacter*. Bovendien wordt het onderzoek bij de dieren gecombineerd met een onderzoek naar dezelfde pathogenen bij veehouders, gezinsleden en medewerkers. Het surveillanceprogramma is na het ontwikkelen van de studieopzet in 2013, in 2014 gestart met de vleesvarkenshouderij, in 2015 zijn legpluimveebedrijven onderzocht en in 2016 de melkgeiten- en melkschapenhouderij. In 2017 worden bedrijven met vleesrunderen bemonsterd. In dit overzicht worden de resultaten van de vleesvarkens en leghennen gepresenteerd.

## VLEESVARKENSHOUDERIJ

In totaal zijn mestmonsters van 196 vleesvarkensbedrijven genomen. Het daadwerkelijke aantal geteste koppels en de prevalenties met bijbehorend 95 procent betrouwbaarheidsinterval per pathogeen zijn weergegeven in tabel 1. Voor het humane gedeelte van de studie hebben 113 veehouders, gezinsleden en medewerkers van 59 bedrijven

ontlastingsmonsters opgestuurd, die zijn getest op *C. difficile* en ESBL.

## CLOSTRIDIUM DIFFICILE

In het onderzoek is op 43,8 procent van de bedrijven *Clostridium difficile* gevonden. In deze studie werden in de varkens naast ribotype 078 (met name in kraambiggen) nog vele andere ribotypes gevonden, waaronder vijf van de zes voor mensen belangrijke ribotypes. Bij negen van de 113 deelnemende personen (8%) is deze bacterie aangetroffen en het betrof in alle gevallen ribotype 078. Hierbij is de prevalentie onder de veehouders en medewerkers 11 procent en bij familieleden ongeveer 2,5 procent. De prevalentie in de algemene bevolking is onbekend maar wordt rond de 2 tot 3 procent geschat.

## ESBL/AMPC-PRODUCERENDE E. COLI

Deze *E. coli* zijn door de aanmaak van enzymen (de zogenaamde Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamases) resistent tegen  $\beta$ -lactam antibiotica. AmpC is een vorm van ESBL. In het onderzoek is op 30,6 procent van de bedrijven ESBL/AmpC producerende *E. coli* gevonden bij vleesvarkens. De genen uit de CTX-M-1 groep (bijna allemaal CTX-M-1) kwamen het meest voor, gevolgd door genen uit de CTX-M-9 en CTX-M-2 groep. Tien personen (10/110, 9,1%) afkomstig van zeven bedrijven bleken positief, waarbij op vijf van deze zeven bedrijven ook ESBL/AmpC producerende *E. coli* in de varkensmonsters gevonden was (zie tabel 3). Bij veehouders en medewerkers lag het percentage op 11,0 procent en bij familieleden op 5,4 procent. Hoewel niet statistisch significant lijkt het percentage bij de veehouders/medewerkers iets hoger dan in de algemene bevolking (~5%). Op één bedrijf (met nummer) is zowel bij de veehouder als de positief bevonden varkens hetzelfde ESBL-gen aangetoond

## CAMPYLOBACTER

Vóór 2014 werd *Campylobacter* onderzoek bij varkens ook meegenomen in de jaarlijkse EFSA zoönosesurveillance. Echter als gevolg van prioritering en een verandering in de wetgeving, wordt sinds 2014 *Campylobacter (coli)* bij varkens niet meer onderzocht.

Op 92,7 procent van de varkensbedrijven werd *Campylobacter* aangetroffen. Het betrof bijna allemaal *Campylobacter coli* isolaten, met een verminderde gevoeligheid voor meerdere soorten antibiotica (met name tegen tetracycline

(87%), streptomycine (83%), sulfamethoxazole (63%) en ampicilline (38%)). 9 procent was ook minder gevoelig voor erythromycine.

## SALMONELLA

In het onderzoek is op 29,7 procent van de vleesvarkensbedrijven *Salmonella* aangetroffen. *Salmonella Derby* en *S. Typhimurium* werden het meest gevonden. *Salmonella*-isolaten (n=57) werden onderzocht op gevoeligheid voor een panel van verschillende antibiotica. *Salmonella Derby* had met name een verminderde gevoeligheid voor streptomycine (33,3%), sulfamethoxazole (29,6%) en tetracycline (25,9%) en *S. Typhimurium* voor ampicilline (63,6%), sulfamethoxazole (63,6%) en tetracycline (63,6%).

## SHIGA TOXINE-PRODUCERENDE E. COLI (STEC)

In het onderzoek werden ophopingen van mest gescreend op het voorkomen van toxine (stx) of aanhechting genen (eae). Op 152 (83,1%) bedrijven werden één of meerdere genen gevonden in de varkensmest. Uit één van de positief gescreende monsters per bedrijf, is geprobeerd STEC te isoleren. Uiteindelijk zijn er 68 STEC isolaten van 41 bedrijven geïsoleerd waarvan het O-type bepaald kon worden. Er werd geen O157 gevonden, maar wel andere bekende humaan pathogene typen zoals O8, O91 en O103.

## RISICOFACITOR ANALYSE

Met de resultaten van het mestonderzoek en de ingevulde bedrijfschecklist is gekeken naar verbanden tussen bedrijfskenmerken en de aanwezigheid van *C. difficile* en ESBL/AmpC-producerende *E. coli* bij de varkens. Er zijn uit deze studie geen risicofactoren geïdentificeerd. Met de humane data is ook gekeken naar risicofactoren voor besmetting van veehouders, medewerkers en gezinsleden met *Clostridium difficile* en ESBL/AmpC-producerende *E. coli*. De aanwezigheid van varkens met ESBL/AmpC op het bedrijf en het verplaatsen van varkens zijn een risicofactor voor mensen voor dragerschap van ESBL/AmpC-producerende *E. coli*. Ook het dragen en hergebruiken van een mondmasker en het bezoeken van een zorginstelling blijken een risicofactor voor dragerschap van ESBL/AmpC-producerende *E. coli*.

## LEGPLUIMVEEHOUDELIJ

In totaal zijn mestmonsters van 155 legpluimveehouderijen genomen. Het aantal geteste koppels



en de prevalenties met bijbehorend 95 procent betrouwbaarheidsinterval per pathogeen zijn weergegeven in tabel 4. Voor het humane gedeelte van de studie zijn 69 ontlastingsmonsters van veehouders, gezinsleden en medewerkers onderzocht. De mensen waren verbonden aan 42 bedrijven.

#### CAMPYLOBACTER

Zoals verwacht komt *Campylobacter* veel voor bij leghennen en werd bij 117 van de 142 bedrijven (82%) aangetoond. Een selectie van tweehonderd isolaten is verder getypeerd. Het grootste deel van de geteste isolaten was *C. jejuni* (62%) en de rest *C. coli* (38%). Ook werd bij twee personen *Campylobacter* aangetoond (2/69, 2,9%). Bij één is dit verder gekarakteriseerd als *C. coli* en de ander kon niet verder getypeerd worden dan *Campylobacter* spp.. Pluimveehouders, gezinsleden en werknemers lijken niet vaker *Campylobacter* bij zich te dragen dan mensen die minder contact met deze dieren hebben (algemene bevolking).

#### SHIGA TOXINE-PRODUCERENDE E. COLI (STEC)

Op geen van de 155 bedrijven is STEC aangetoond in de mestmonsters van leghennen. Ook is bij geen van de humane deelnemers STEC aangetoond in de ontlasting. STEC was meegenomen in de studie omdat infecties bij mensen met STEC met het stx2f-gen geassocieerd worden met vogels. Er zijn dus geen aanwijzingen dat STEC veel voorkomt onder leghennen en daarom lijkt het niet waarschijnlijk dat er een link is tussen het voorkomen van STEC infecties met stx2f-gen bij mensen en leghennen.

#### ESBL/AMPC-PRODUCERENDE BACTERIËN

Bij 63 van de 155 bedrijven (40,6%) werden ESBL/AmpC-producerende *E. coli* aangetoond. Vier mensen waren positief voor ESBL/AmpC-producerende *E. coli* (4/69, 5,8%). Bij veehouders en medewerkers lag het percentage op 6,8 procent en bij familieleden op 4 procent. Bij twee deelnemers bleek het ESBL/AmpC-gen overeen te komen met ESBL/AmpC-genen die waren gevonden in de mest op hetzelfde bedrijf. Veehouders, gezinsleden en medewerkers van leghennenbedrijven lijken niet vaker ESBL/AmpC-bacteriën bij zich te dragen dan mensen die minder contact hebben met deze dieren (algemene bevolking).

#### CHLAMYDIA PSITTACI

In het onderzoek is op geen van de 154 bedrijven *C. psittaci* aangetoond in de mestmonsters van leghennen. Ook is bij geen van de humane deelnemers *C. psittaci* aangetoond.

#### RISICOFACITOR ANALYSE

Met de resultaten van het mestonderzoek en de ingevulde bedrijfschecklist is uitgebreid gekeken naar verbanden tussen bedrijfskenmerken en de aanwezigheid van *Campylobacter* en ESBL/AmpC-producerende *E. coli* bij de leghennen. Er konden geen factoren worden geïdentificeerd. Door het lage aantal positieve uitslagen kon geen risicofactor analyse uitgevoerd op de humane data voor *Campylobacter*, ESBL/AmpC-producerende *E. coli*, STEC en *Chlamydia*.

#### DISCUSSIE

De mestmonsters van de vleesvarkens zijn onderzocht op het voorkomen van *Clostridium difficile*, ESBL/AmpC-producerende *E. coli*, *Salmonella*, *Campylobacter* en Shiga toxine-producerende *E. coli* (STEC). *Clostridium difficile* werd bij meer dan 40 procent van de vleesvarkensbedrijven gevonden. In twee eerdere Nederlandse studies waarbij varkens op een slachthuis zijn getest was in één studie 28 procent van de monsters positief, afkomstig van 9 van de 10 geteste bedrijven (4) en in de andere studie was 9 procent van de varkens van conventionele bedrijven positief en die kwamen van 66,7 procent (16/24) van de bedrijven (8). Evenals in de eerder genoemde studies op het slachthuis worden ook in deze studie veel verschillende ribotypes gevonden. In Nederland zijn de belangrijkste ribotypes die bij mensen infecties veroorzaken 001, 078, 014, 002, 027 en 126. Vijf van deze zes ribotypes zijn in deze studie bij varkens gevonden. Bij 11 procent van de veehouders en medewerkers is *C. difficile* (alleen het ribotype 078) aangetoond. De prevalentie lijkt hoger dan bij de algemene bevolking. De schatting is dat 2 tot 3 procent van de algemene bevolking drager is van *C. difficile* (persoonlijke communicatie Ed Kuijper).

ESBL/AmpC-producerende *E. coli* werd op 30,8 procent van de vleesvarkensbedrijven gevonden. Dit is iets lager dan in een eerder onderzoek uit 2011, waar ESBL/AmpC-producerende *E. coli* aanwezig was op 18/40 (45%) van de onderzochte bedrijven (3). 9 procent van de humane deelnemers bleek positief. Dit percentage lijkt

iets hoger te zijn dan in de algemene bevolking, en hoger dan in de studie uit 2011 waarin ook veehouders, familieleden en werknemers zijn onderzocht en waar een prevalentie van 6 procent werd gevonden (3). Met name bij de mensen die daadwerkelijk op het bedrijf werken was de prevalentie iets hoger (11 procent). Tegen de verwachting in kon dagelijks contact met varkens niet als risicofactor worden aangemerkt. Wel was de aanwezigheid van varkens met ESBL/AmpC-producerende *E. coli* op het bedrijf en het verplaatsen van varkens, ook een moment van direct contact, een risicofactor voor mensen voor dragerschap van ESBL/AmpC-producerende *E. coli*. Opvallend was dat het dragen van een mondmasker niet beschermend was maar juist een risicofactor voor ESBL/AmpC-producerende *E. coli*. Dit wordt mogelijk verklaard doordat alle positieve personen het mondmasker ook hergebruikten. Ook was het bezoeken van een zorginstelling een risicofactor voor dragerschap van ESBL/AmpC-producerende *E. coli*, dat waarschijnlijk niet gerelateerd is aan de varkenshouderij.

“Op 30 procent van de bedrijven werd *Salmonella* gevonden bij de vleesvarkens.”

Op 30 procent van de bedrijven werd *Salmonella* gevonden bij de vleesvarkens. In de periode van 1998 tot 2000 waren de gevonden bedrijfsprevalenties 34,1 procent, 12,7 procent en 35,8 procent, waarbij aangemerkt moet worden dat de monsterperiodes en analyse-methodes varieerden (1). *Salmonella* Derby en *S. Typhimurium* zijn de meest gevonden serotypen. *Campylobacter* werd op 90 procent van de bedrijven gevonden. Zoals verwacht betreft het in bijna alle gevallen een besmetting met *C. coli* (97%). Opvallend is dat de meeste isolaten resistent zijn tegen een of meerdere antibiotica waaronder ook ruim 9 procent tegen erythromycine. In MARAN wordt een afname in resistentie tegen erythromycine gerapporteerd van 26 procent in 2010 naar 7 procent in 2013 en 0 procent in 2015 (10,11). Op 152 van de 183 (83%) van de bedrijven werden STEC-genen aangetoond in de varkensmest, en op 41 van deze bedrijven werd ook daad-

werkelijk STEC geïsoleerd en getypeerd. De mestmonsters van de leghennen zijn onderzocht op het voorkomen van *Campylobacter*, STEC, ESBL-producerende *E. coli* en *Chlamydia psittaci*. Zoals verwacht werd wel bij veel bedrijven *Campylobacter* gevonden (82 procent). Er zijn weinig eerdere onderzoeken in Nederland waarin gekeken is naar de prevalentie van *Campylobacter* in leghennen. In een studie van NEPLUVI in het kader van het Tweede Convenant *Campylobacter* aanpak pluimveevlees in Nederland is ook een leghennenslachterij onderzocht (9). Hieruit blijkt dat de leghekkoppels vaak (rond de 90%) besmet waren met *Campylobacter*.

ESBL/AmpC-producerende *E. coli* werd op 47 procent van de leghekkbedrijven gevonden. Deze prevalentie op bedrijfsniveau is be-  
duidend lager dan tot nu toe beschreven bij vleeskuikens (2,5,11) waar de prevalentie op bedrijfsniveau 95 tot 100 procent is. Mogelijk heeft dit ermee te maken dat er in verband met de eiproductie in het algemeen minder antibiotica gebruikt worden op leghekkbedrijven in vergelijking tot vleeskuikenbedrijven. Slechts 6 procent van de humane deelnemers was positief. Dit percentage komt overeen met de prevalentie van ESBL/AmpC-producerende *E. coli* van de algemene bevolking (5,1 -8,6%) (5,12)), ook als we alleen naar de veehouders en medewerkers kijken (6,8%).

Op de bedrijven werd geen *Chlamydia psittaci* en geen STEC gevonden. Voor zover bekend is dit de eerste studie waarbij deze zoönoseverwekkers op deze schaal zijn onderzocht.

**Met dank aan** Anja Haenen, Engeline van Duijkeren, Lianne van Ruitenbeek, Mathilde Uiterwijk, Haitske Graveland, Tizza Zomer, Angela van Hoek (RIVM), Marloes Heijne (WBVR), Karin Nagel, Coen van der Weijden, Els Biesta- Peters, Rianne Hagen (NVWA), de monsternemers en analisten van de NVWA, en Paul Hengeveld en El Bouw (RIVM) voor het analyseren van de monsters.

*Dit artikel moest voor publicatie worden ingekort. Kijk op de TvD-website voor de volledige tekst, inclusief de beschrijving van de onderzoeksmethodiek, de tabellen en de referenties.*