

## BIJLAGE

### Risicobeoordeling Q-koorts via mest

#### Inleiding

Q-koorts wordt veroorzaakt door *Coxiella (C.) burnetii*. In 2008 vond in Nederland de grootste uitbraak van Q-koorts ter wereld plaats met meer dan 950 klinische ziektegevallen [1]. Herkauwers vormen een belangrijk reservoir. Na een natuurlijke infectie vindt bij herkauwers de uitscheiding plaats via vagina, feces, melk en urine [2,3]. Kwantitatieve gegevens in deze matrices zijn voornamelijk niet bekend. Bij een abortus die het gevolg is van Q-koorts worden waarschijnlijk miljarden bacteriën uitgescheiden met vruchtwater en in de placenta [4,5]. De inhoud van een potstal waarin melkgeiten en -schapen worden gehouden zal na een abortusgolf dan ook ernstig gecontamineerd zijn met *C. burnetii*.

De extracellulaire, sporeachtige vorm de Small Cell Variant (SCV) van de verwekker behoudt tenminste vier maanden het ziekteverwekkend vermogen in stof [6] en waarschijnlijk ook in de 'potstalmest', in dit advies verder te noemen: mest. Blootstelling van mensen aan *C. burnetii* vindt voornamelijk plaats door het inademen van met mestdeeltjes besmette aerosolen en in mindere mate door contact met besmette dieren en materialen.

#### Bewaking en bestrijding

Sinds 12 juni 2008 bestaat er in Nederland een meldingsplicht voor Q-koorts bij melkgeiten en -schapen. Veehouders en dierenartsen zijn verplicht om de verschijnselen van Q-koorts te melden bij het Landelijk meldpunt voor dierziekten. Na wijziging van de regeling per 30 januari 2009, is de veehouder die meer dan 50 melkgeiten of -schapen houdt, onafhankelijk van de eventuele klinische verschijnselen, verplicht maatregelen te nemen die voor een groot deel betrekking hebben op vermindering van de risico's door mest:

- de potstal mag pas vanaf één maand na afloop van de lammerperiode worden uitgemest
- de mest moet op hetzelfde bedrijf ofwel onmiddellijk onder de grond worden gewerkt of drie maanden worden gecomposteerd
- bij opslag en vervoer van mest op het bronbedrijf is de mest adequaat afgedekt
- vervoer van mest van het bronbedrijf is alleen toegestaan als deze adequaat is afgedekt, rechtstreeks wordt vervoerd naar een bedrijf bedoeld in de Meststoffenwet en daar onmiddellijk wordt ondergewerkt
- gecomposteerde mest van het bronbedrijf moet, vergezeld van de benodigde administratieve gegevens, voldoen aan dezelfde eisen maar hoeft op een bedrijf als genoemd in de Meststoffenwet, niet onmiddellijk te worden ondergewerkt.

Behalve deze risicoreducerende maatregelen voor mest, is een vaccinatie programma tegen *C. burnetii* gestart.

#### Het afdoden van *C. burnetii*

Beheersmaatregelen voor ongewenste micro-organismen bestaan vaak uit temperatuurbehandelingen waarbij de temperatuur verhoogd wordt tot een bepaald minimum gedurende een experimenteel vastgestelde tijd waarin een (vrijwel) volledige afdoding plaatsvindt. Vaak wordt hierbij gerekend met factoren 10 reductie, ook wel de log-reductie of decimale reductie genoemd. Hierbij betekent een log-2 reductie bijvoorbeeld, dat ongeveer 1% van het aantal organismen de behandeling overleeft. De decimale reductie wordt in belangrijke mate bepaald door de hitteresistentie die voor ieder micro-organisme een specifieke waarde heeft.

#### Hitteresistentie van *C. burnetii*

Het onderzoek naar de hitteresistentie van *C. burnetii*, wordt bemoeilijkt omdat het op dit moment nog moeilijk is het organisme in reïncultuur te kweken. Hierdoor zijn de gegevens die nodig zijn voor het ontwikkelen van beheersmethoden, zoals de relatie tussen overleving bij bepaalde temperaturen gedurende een gegeven tijd in een bepaalde matrix, niet beschikbaar in de gewenste nauwkeurigheid. Wel zijn er enkele losse gegevens, in andere matrices dan mest, bekend:

- volledige afdoding vindt plaats bij 130 °C gedurende 60 min [6]
- van de 5 - 6 log kolonie vormende eenheden (kve) in een mengsel van zand en klei met een temperatuur van 34 - 36 °C, konden na 60 dgn geen levensvatbare bacteriën meer worden geïsoleerd [7]
- 5 log kve in melk van 61,7 °C en 72,2 °C werden gedood binnen 34 min respectievelijk 10 sec [8]
- de USA pasteurisatie standaard voor 'ice cream mix' is, gebaseerd op volledige afdoding van *C. burnetii*: 79,4 °C gedurende 25 sec.
- *C. burnetii* in besmette eidooiers in melk, overleefde bij 62, 70 en 100 °C respectievelijk maximaal 30 min, 1 min en 7 sec. Na die temperatuur/tijd combinaties konden geen levende bacteriën meer worden aangetoond [9].

Universeel geaccepteerde temperatuur/tijd combinaties voor het afdoden van *C. burnetii* in melk zijn - met een kleine veiligheidsmarge - gebaseerd op de experimenten van Enright et al., gepubliceerd in 1957: 30 min bij 63 °C of 15 sec bij 72 °C (D-waarden in min). Bij het verhogen van de temperatuur van de melk van bijvoorbeeld 63 °C, met 4,34 °C (z-waarde in °C) vindt er een decimale reductie plaats van de daarvoor benodigde tijd (30 min → 3 min) [10]. De hitteresistentie van *C. burnetii* in melk wordt bepaald door de D-waarde en de z-waarde.

#### Invloed van de matrix

De hitteresistentie is niet alleen afhankelijk van het micro-organisme maar onder andere ook van de matrix waar het zich in bevindt [11]. Bij een vergelijking van de afdoding van *Bacillus subtilis* var. *niger* bleek bij het verminderen van de waterconcentratie door toevoeging van propyleenglycol, de z-waarde met een factor 4 toe te nemen [12]. Het doden van sporen van *P. polymyxa* in een oplossing met een lagere zuurgraad, kostte bij dezelfde temperatuur 30% meer tijd dan in gedestilleerd water [13]. De aard en samenstelling van de matrix (watergehalte, pH, etc.) hebben dus grote invloed op de hitteresistentie.

#### Vergisting

De in Nederland recent verplicht gestelde periode van drie maanden compostering, is er op gericht om, door de bij vergisting optredende temperatuurverhoging, het aantal levensvatbare *C. burnetii* in de mest te reduceren. Organisch materiaal kan met diverse systemen worden vergist, te weten aëroob, anaëroob, mesofiel, thermofiel etc. Een eenvoudig onderscheid kan worden gemaakt aan de hand van het voornaamste eindproduct: compost of gas.

- Composteren is een proces waarin mest wordt afgebroken met behulp van micro-organismen om te worden omgezet in een homogeen en zodanig stabiel eindproduct dat alleen nog een langzame afbraak van humeuze verbindingen plaatsvindt die geschikt is voor bemesting. Als meerdere soorten organisch materiaal, bijvoorbeeld mest en maïs, worden afgebroken spreekt men van co-vergisting. Zowel bij extensieve (langdurig, ambachtelijk) als bij intensieve (kortdurend, industrieel) compostering is het voornaamste eindproduct compost dat gebruikt wordt voor bemesting.
- Biogasinstallaties produceren uit organisch materiaal door vergisting voornamelijk gas dat toegevoegd kan worden aan de gasleiding en via deze weg de verbruikers bereikt. Het digestaat dat als 'bijproduct' wordt gewonnen kan eveneens worden gebruikt voor bemesting. Ook in biogasinstallaties kan sprake zijn van het gebruik van meerdere materialen: (co-)vergisting [14].

Bij thermofiele vergisting (>40 °C) zullen de temperaturen geleidelijk oplopen tot 50 à 65 °C [15]. Metingen bij 4 grote bedrijven die verschillende vergistingsystemen gebruiken tonen aan dat in de verschillende lagen van de te vergisten massa, grote variaties optreden in de temperatuur. De temperaturen varieerden respectievelijk van 50-66, 45-74, 62-66 en 43-57 °C. Het gemiddelde van 4 bedrijven was 58 °C, met gemiddeld per bedrijf 58, 59,5, 64 en 55 °C [16]. Wanneer een temperatuur van tenminste 55 °C gedurende tenminste 3 dagen wordt bereikt, zouden de meeste pathogenen effectief zijn verwijderd [17]. Veel pathogenen zijn onderzocht maar de overleving van *C. burnetii* in mest of een vergelijkbare matrix, is in geen enkel onderzoek zorgvuldig bestudeerd. Afhankelijk van de risico's kan de 'grondstof' (influent) en/of het eindproduct (effluent) door industriële bedrijven gepasteuriseerd worden: 70 °C gedurende een bepaalde tijd. In Zweden en Denemarken geldt daarvoor een periode van 60 min [16].



#### *Reductie C. burnetii bij ambachtelijk versus industrieel composteren*

De geldende periode bij ambachtelijk composteren van mest van melkgeiten en -schapen en industriële compostbedrijven is respectievelijk 3 maanden en 3 tot 5 weken. De gemiddelde temperatuur van beide methoden van composteren ligt in dezelfde grootteorde, variërend van 50 - 65 °C, maar vertoont waarschijnlijk een grote variatie. Voor een vergelijking van ambachtelijk en industrieel composteren, wordt daarom alleen het verschil in tijd verdisconteerd bij aannahme van continue blootstelling van de hele massa aan een zelfde temperatuur van 50 °C gedurende 12, respectievelijk 4 weken.

Bij een vergelijking van beide processen moet - noodgedwongen – worden uitgegaan van de (wel bekende) hiteresistentie van *C. burnetii* in melk. Bij 63 °C vindt in melk in 30 min een log-7 reductie plaats [10]. Bij 50 °C verloopt de afdoding trager en duurt het  $3 \cdot 10^4$  min ofwel circa 21 dagen, voor een vergelijkbaar effect wordt gerealiseerd. Bij ambachtelijke en industriële compostering vindt in de gestelde tijd, een reductie plaats van circa 4,3 log-7 ( $4,3 \cdot 10^7$ ) respectievelijk 1,4 log-7 ( $1,4 \cdot 10^7$ ).

Het verschil tussen beide processen is dus, ondanks een drie maal langere composteringstijd, aanmerkelijk minder dan één decimale reductie.

#### *Reductie C. burnetii bij 70 °C tijdens industriële verwerking*

De industriële composteerder kan een extra verhittingstap toepassen waarbij de hele massa gedurende een bepaalde tijd op een vastgestelde temperatuur wordt gehouden. Als de massa gedurende tenminste 2 min 70 °C bereikt, resulteert dit in een log-7 reductie. Een verlenging van de pasteurisatie tot 20 minuten, realiseert een log-8 reductie. Hiermee wordt het geringe verschil in decimale reductie bij industriële compostering in vergelijking met ambachtelijke compostering, ruim gecompenseerd. Als de initiële hoeveelheid bacteriën per gram incidenteel groter is zal echter ook tijdens industriële verwerking een grotere hoeveelheid bacteriën overblijven.

Een industrieel compostbedrijf is bovendien verplicht temperaturen en tijden te bewaken en te registreren. In vergelijking met ambachtelijke compostering kan daarom een beter zicht worden verkregen op de veronderstelde effectiviteit van het proces wat betreft het afdoden van *C. burnetii*. De compost van deze bedrijven zal echter ook meerdere 'consumenten' bereiken dan de compost van de veehouder die voor het grootste deel wordt verwerkt in de agrarische sector.

### **Risicoverschil tussen veehouderijen**

Omdat betrouwbare gegevens over de aantallen bacteriën in mest niet beschikbaar zijn is het momenteel niet mogelijk het risico van mest afkomstig van bedrijven die Q-koorts wel en niet hebben gemeld te schatten. Naar alle waarschijnlijkheid zijn de verschillen in aantallen bacteriën substantieel en hiermee moet bij de risicobeheersing rekening worden gehouden.

#### *Bedrijven waar Q-koorts is gemeld*

Bedrijven zijn verplicht de VWA te melden als er meer dan 5% van de dieren aborteert. Met name tijdens verwerpen worden met de placenta en het vruchtwater zeer grote aantallen *Coxiella*'s uitgescheiden. De placenta kan bijvoorbeeld wel  $10^9$  bacteriën per gram bevatten. Langdurige uitscheiding via mest en urine zal het aantal nog doen toenemen, maar betrouwbare aantallen zijn echter (nog) niet bekend. In sommige gevallen zal bij een zogenaamde abortusgolf tot 90% van de dieren kunnen aborteren zodat de potstalmest van die bedrijven, enorme aantallen bacteriën zal bevatten. Bij vervoer van mest dienen de geldende eisen strikt te worden nageleefd en aan de mestverwerking van deze bedrijven moeten hoge eisen gesteld worden wat betreft de mate van risicoreductie.

#### *Bedrijven waar geen Q-koorts is gemeld*

Een klein percentage 'verwerpers' wordt in de schapen- en melkveehouderij als normaal beschouwd. In veel gevallen is dit te wijten aan een niet infectieuze oorzaak of spelen andere ziekteverwekkers een rol. Het is echter waarschijnlijk dat ook op sommige van deze bedrijven waar het abortuspercentage onder de 5% blijft, door sommige dieren *Coxiella*'s worden uitgescheiden die in de mest terechtkomen. Aangenomen mag worden dat deze aantallen in een totaal andere grootteorde liggen dan in de bedrijven die Q-koorts hebben gemeld.

## Regelgeving

Ondernemers die mest (co-)vergisten hebben te maken met de zowel Nederlandse Meststoffenwet als de Europese dierlijke bijproducten verordening [18]. Mest inclusief urine en strooisel, wordt in de Verordening op geleide van het risico, ingedeeld bij categorie 2-materiaal en dient conform de vereisten van de verordening te worden verwerkt. Onder andere opslag, vervoer (doelmatig afgedekt), export en verwerking zijn aan voorwaarden gebonden. Als de bevoegde autoriteit niet denkt dat de mest een ernstige overdraagbare ziekte kan verspreiden kan de mest conform artikel 2<sup>e</sup> onder andere, onverwerkt worden gebruikt als grondstof in een biogas- of composteersinstallatie die conform artikel 15 is erkend [18,19]. In andere gevallen moet de mest conform artikel 2a,b of c worden verbrand c.q. gesteriliseerd in een installatie die conform artikel 12 c.q. 13 is erkend [18, 19]. Erkende installaties moeten onder andere, de temperatuur in relatie tot de tijd (kunnen) bewaken en registreren. Voor industriële compostering van mest is geen minimum temperatuur vastgesteld zoals bij categorie 3-materiaal waar de hele massa tenminste 60 min op tenminste 70 °C moet worden gehouden.

## Samenvatting

- *Coxiella burnetii* wordt hoofdzakelijk overgebracht via gecontamineerde aerosolen. Mest die met nageboorte materialen van besmette dieren is vermengd, vormt daarbij een belangrijke bron.
- Er is naar alle waarschijnlijkheid een substantieel verschil in de aantallen *C. burnetii* in de mest van bedrijven die Q-koorts hebben gemeld en bedrijven die niet hoefden te melden.
- De huidige preventieve maatregelen zijn wat betreft mest uit de lammerperiode, voornamelijk gericht op vermindering van blootstelling van mensen door het direct onderwerken of het reduceren van het aantal verwekkers door temperatuurverhoging. De temperatuur kan hierbij sterk variëren sterk.
- Literatuurgegevens over afdoding bij bepaalde temperatuur/tijd combinaties van de resistente Small Cell Variant van *C. burnetii* in mest en/of compost zijn niet beschikbaar en die in andere matrices zijn beperkt. Daarom is het nog niet mogelijk om de effectiviteit van de bestaande processen en daarmee de mate van risicoreductie vast te stellen.
- Als wordt aangenomen dat de hiteresistentie van *C. burnetii* die enkele decennia geleden is afgeleid in melk, ook geldig is in mest kunnen beide processen vergeleken worden. Bij 50 °C, de naar verwachting minimaal gerealiseerde temperatuur, is het verschil in reductie bij beide processen als gevolg van het verschil in duur ( 3 maanden ambachtelijk versus 1 maand industrieel), slechts gering. Toevoegen van pasteurisatie door compostbedrijven bij 70 °C gedurende 20 min compenseert dit verschil ruimschoots en realiseert een reductie ruim boven 8-D (log-8). Ook is de procesbewaking door industriële composteerders in vergelijking met ambachtelijk composteren, beter geborgd.
- Industriële compost kan door grotere verspreiding, onder andere bij consumenten een groter restrisico opleveren dan ambachtelijke compost.
- Omdat kwantitatieve gegevens van *C. burnetii* in de mest en de mate van afdoding bij verschillende temperatuur/tijd combinaties voornamelijk ontbreken, is het risico dat samenhangt met het aanbieden van mogelijk met *C. burnetii* gecontamineerde mest aan biogasinstallaties, niet bekend.
- Mest moet, als categorie 2-materiaal, worden verwerkt volgens de vereisten van de 'Verordening Dierlijke Bijproducten'. Als mag worden aangenomen dat de mest bij kan dragen aan de verspreiding van een ernstige overdraagbare ziekte moet de mest gesteriliseerd c.q. verbrand worden.

### Geraadpleegde literatuur

1. Schimmer B et al.. Large ongoing Q fever outbreak in the South of the Netherlands, 2008. *Eurosurveillance* 2008; 13, Issue 31, 31 July 2008
2. Rodolakis A. Comparison of *Coxiella burnetii* Shedding in Milk of Dairy Bovine, Caprine, and Ovine Herds. *J Dairy Sci* 2007; 90: 5352-5360
3. Guatteo R et al.. Shedding routes of *Coxiella burnetii* in dairy cows: Implications for detection and control. *Vet Res* 2006; 37: 827-833
4. Babudieri B. Q fever : a zoonosis. *Adv Vet Sci* 1959; 5: 81-154
5. Aitken ID. Clinical aspects and prevention of Q fever in animals. *Eur J Epidemiol* 1989 ; 5: 420-424
6. Material Safety Data Sheet, Iowa State Univ 2005
7. Ignatovich in *Microbial survival in the environment – bacteria and rickettsia important in human and animal health* by Mitscherlich E and Marth EH.. Publ. by Springer Berlin, 1984
8. Enright 1956 et all. in *Scientific Evaluation of Pasteurisation for Pathogen Reduction in Milk and Milk Products* by Harley Juffs and Hilton Deeth. Food Standards Australia and New Zealand May 2007
9. Ranson and Huebner 1951 in *Microbial survival in the environment – bacteria and rickettsia important in human and animal health* by Mitscherlich E and Marth EH.. Publ. by Springer Berlin, 1984
10. Cerf O and Condron R. *Coxiella burnetii* and milk pasteurization: an early application of the precautionary principle? *Epidemiol Infect* 2006; 134: 946-951
11. Freier TA. Use of the AMI Process Lethality Spreadsheet to Validate the Safety of Cooking Procedures. Oral presentation at the 2001 International Animal Agriculture and Food Science Conference, Indianapolis 2001.
12. Philipp B and Sucker H. Heat Sterilization of Bioindicators in Propylene Glycol and Propylene Glycol-Water Mixtures: Arrhenius Equation, Thermodynamic Data, and Z Values. *Pharmaceutical Research* 1990. Volume 7, Number 12 / December.
13. Casadei MA et al.. Heat resistance of *Paenibacillus polymyxa* in relation to pH and acidulants. *Journal of Applied Microbiology* 2007. Vol. 89 [5]: 801-806
14. LeAF. Inventarisatie van het risico van transmissie van pathogenen uit biogas, april 2008. In opdracht van SenterNovem
15. Golueke CG. When is compost safe? *Biocycle* 1982. March/April: 28-38
16. Chrisstensen KK et al.. Strategies for evaluating the sanitary quality of composting 2002. *Journal of applied Microbiology* 92: 1143-1158
17. Jones P and Martin M. A review of the literature on the occurrence and survival of pathogens of animals and humans in green compost. Publ. by The waste and resources action programme, the Old Academy Oxon 2003. ISBN: 1-84405-063-7
18. Verordening 1774/2002 EC van 3 oktober 2002 tot vaststelling van gezondheidsvoorschriften inzake voor menselijke consumptie bestemde dierlijke bijproducten
19. VWA. Co-vergisting & Dierlijke Bijproducten Verordening. Informatieblad 82, juni 2008