

Vaccinatie tegen *Campylobacter*

Rapportnummer WUR 1845093

Jaap Wagenaar

Februari 2019

Dit project werd gefinancierd in de vorm van een Publiek Private Samenwerking (PPS) onder het Topsectorenbeleid van het Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit. Het is onderdeel van het onderzoeksproject TKI- AF-14203 'Beheersing van *Campylobacter* in de pluimveesector' (BO-33.04 AF8).

Wagenaar, J. 2019 *Vaccinatie tegen Campylobacter* Lelystad, Wageningen Bioveterinary Research, Report.

Dit rapport is gratis te downloaden op <https://doi.org/10.18174/574415>
of op www.wur.nl/bioveterinary-research (onder Wageningen Bioveterinary Research publicaties).

© 2022 Wageningen Bioveterinary Research
Postbus 65, 8200 AB Lelystad, T 0320 23 82 38, E info.bvr@wur.nl, www.wur.nl/bioveterinary-research.
Wageningen Bioveterinary Research.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden vermenigvuldigd en/of openbaar gemaakt worden door middel van druk, fotokopie, microfilm of op welke wijze dan ook zonder voorafgaande toestemming van de uitgever of auteur.

Wageningen Bioveterinary Research Report

Index

Samenvatting	5
1 Inleiding	6
2 Materiaal en methoden	7
3 Resultaten	8
4 Discussie	10
5 Referenties	11
Bijlage 1. European perspective on Campylobacter control. National Symposium on Campylobacter Intervention; 98th annual Conference of Research Workers in Animal Diseases. Chicago, 3 december 2017	12

Samenvatting

Gebaseerd op Canadese studies is een vaccinatie experiment uitgevoerd met als doel vleeskuikens te beschermen tegen *Campylobacter*. Basis van de studies waren de gepubliceerde gegevens uit Canada met een antigeen, gekloneerd in *E. coli*, dat in het verleden in Utrecht (Faculteit Diergeneeskunde) was ontwikkeld. Omdat *E. coli* de 'drager' van het vaccin was, was het mogelijk om vleeskuikens oraal (met de *E. coli*) te vaccineren. Vleeskuikens werden na vaccinatie blootgesteld aan *Campylobacter* met een dosis die in 80% van de niet gevaccineerde leidde tot kolonisatie in de darm. Effect van vaccinatie werd gemeten aan de hand van bescherming tegen kolonisatie (gemeten aan de hand van kolonisatie van *Campylobacter* in de darm) en aan de hand van antistoffen gevormd tegen het *Campylobacter* antigeen. De resultaten van de gevaccineerde dieren bleek niet significant te verschillen van de controle dieren wat betreft kolonisatie en wat betreft de hoogte van de antilichaam titer.

1 Inleiding

Campylobacter is de belangrijkste veroorzaker van bacteriële voedselinfecties, niet alleen in Nederland maar in de EU en ook daarbuiten. Pluimvee is een belangrijke bron van *Campylobacter* voor de mens waarbij een geschatte bijdrage van 20-30% van de infecties bij de mens afkomstig zijn van verwerken en consumeren van pluimveevlees met 50-80% van de infecties als bron de pluimveesector als geheel (EFSA, 2011). Zowel nationaal als internationaal onderzoek heeft maar zeer beperkt geleid tot een aanpak die in de praktijk effectief en werkbaar is. Voorkómen of verminderen van de besmetting van pluimvee geschiedt bij voorkeur in de levende fase op het primaire bedrijf omdat daarmee de enorme vermeerdering van *Campylobacter* wordt voorkomen en daarmee, gezien de getallen van de EFSA, de grootste effectiviteit verkregen wordt (50-80% van de infecties bij de mens afkomstig van pluimveebron). Nederlands onderzoek geeft aan dat niet gestreefd hoeft te worden naar afwezigheid van *Campylobacter* op producten; blootstelling aan kleine hoeveelheden *Campylobacter* levert maar een hele kleine kans op ziekte. Producten met een hoge concentratie *Campylobacter* geven een grotere kans op ziekte bij de mens en beheersing moet dus gericht zijn op het voorkómen van hoog besmette eindproducten. Er hoeft in dieren dus ook geen zogenaamde steriele immuniteit verkregen te worden (complete afwezigheid van het agens na vaccinatie). Risicobeoordelingsstudies geven aan dat een honderdvoudige reductie in darmkolonisatie een aanzienlijke reductie van de ziektelast bij de mens kan geven. Deze recente verschuiving in denken (vermindering in plaats van eliminatie) vormt de basis van een EU aanpak die inmiddels geïmplementeerd is in het Europese beleid (zie in bijlage presentatie gegeven door Jaap Wagenaar in Chicago: 'European perspective on *Campylobacter* control'. National Symposium on *Campylobacter* Intervention; 98th annual Conference of Research Workers in Animal Diseases. Chicago, 3 december 2017).

Er is (nog) geen commercieel vaccin beschikbaar tegen *Campylobacter*. Hierbij speelt onder meer een rol dat *Campylobacter* geen pathogeen is voor pluimvee en kippen dus niet 'van nature' een effectieve afweer tegen *Campylobacter* ontwikkelen (De Zoete et al, 2007). Er is een vaccin-kandidaat beschreven in Canadees onderzoek die zeer goed werkt, mede gebaseerd op bacteriestammen van de UU (Nothhaft et al, 2016 en 2017)). Dit wordt ondersteund door eigen onderzoek van de UU waar uit fundamenteel onderzoek ook een dergelijke kandidaat geïdentificeerd is. De werking van deze vaccin kandidaat hangt samen met de suikermoleculen die aan eiwitten op het oppervlak van *Campylobacter* zijn gekoppeld. Een bepaalde vorm van deze zogenaamde 'glycosylering' is essentieel voor effectiviteit. Het geglycosyleerde eiwit kan geproduceerd worden en er kan worden getest of de Canadese resultaten bevestigd kunnen worden.

2 Materiaal en methoden

Het vaccin is ontwikkeld op de faculteit Diergeneeskunde in Utrecht. Genen van *Campylobacter* zijn ingebouwd in een *Escherichia coli* stam waardoor op de oppervlakte van de *E. coli* geglycosyleerde oppervlakte genen tot expressie worden gebracht. De stam is getest op stabiliteit.

Commerciële vleeskuikens werden als bebroed ei verkregen via een commerciële broederij. Dit betekent dat er niet van tevoren is geselecteerd op eieren die vrij zijn van anti-*Campylobacter* antilichamen zoals bij SPF eieren het geval is. Hiervoor gekozen omdat verondersteld werd dat het antigeen in voldoende mate aanwezig was (in een levende *E. coli* wordt het voortdurend aangemaakt) en dat een verandering in antilichaamtiter gedetecteerd kon worden. De eieren werden uitgebreed in de dierfaciliteiten van de Faculteit Diergeneeskunde in Utrecht. De dieren werden tot dag 7 in groepshuisvesting gehouden. Op dag 7 werden drie groepen gevormd van ieder 20 dieren die individueel gehuisvest werden. Individuele huisvesting was noodzakelijk omdat in groepshuisvestingblootstelling individuele dieren aan grote aantallen *Campylobacter* kunnen worden blootgesteld als er één kuiken positief wordt. Dit zou tot onderschatting van de effectiviteit van het vaccin kunnen leiden. Verdeling van de drie groepen was niet random in de ruimte omdat niet-gevaccineerde dieren mogelijk grote hoeveelheden *Campylobacter* uit gaan scheiden waardoor de blootstelling van dieren die naast een hoge uitscheider zijn gehuisvest dan mogelijk kan leiden tot doorbraak in het vaccin. Het vaccin is er op gericht om het koppel minder vatbaar te maken voor een *Campylobacter* besmetting. Als er een eerste besmetting is van een dier in een koppel zal de blootstelling van de overige dieren in het koppel zo groot zijn dat dit door het vaccin "heen zal breken". Het plaatsen van de drie diergroepen op afstand van elkaar wordt dus bewust gedaan in deze proefopzet. De opstelling was in 3 rijen in de lengte van de ruimte waarbij de hokjes van de placebo gevaccineerde dieren tegen één wand stonden; de gevaccineerde tegen de andere wand en de *E. coli* controle in het midden.

Vaccinatie vond plaats op dag 7 en dag 14 met een orale dosis van het vaccin. Groep 1 kreeg het levende vaccin (een *E. coli* stam met *Campylobacter* antigeen), groep 2 een levende controle stam (*E. coli*) en groep 3 was de negatieve controle groep die een placebo kreeg (PBS). Alle vleeskuikens werden op dag 22 oraal blootgesteld aan 10^4 *Campylobacter* bacteriën. Op dag 30 werden de dieren geëuthanaseerd. De primaire uitleesparameter was het aantal dieren per groep dat positief werd. De 2^e uitleesparameter was de aantallen *Campylobacter* in het caecum (kolonievormende eenheden per gram mest). De 3^e parameter was de antilichaamtiter. Verdunningen van de caecuminhoud werden uitgeplaat op CCDA platen en op Skirrow platen. Antilichaam titers werden bepaald in serummonsters verkregen op dag 23 en bij verbloeden op dag 32. Antigeen werd bereid door een 5 McFarland suspensie te maken van *Campylobacter*, deze te inactiveren bij 55°C en te verdunnen tot 0,5 McFarland. Platen werden gecoat door 100 ul van deze suspensie in te laten drogen in 96 wells platen. De ELISA werd uitgevoerd zoals beschreven door Vaezirad et al. 2018 en Radomska et al, 2016.

3 Resultaten

Er zijn 3 dieren uitgevallen tijdens het experiment aan pootproblemen: 2 uit de placebo (PBS) groep en 1 uit de controle *E. coli* groep.

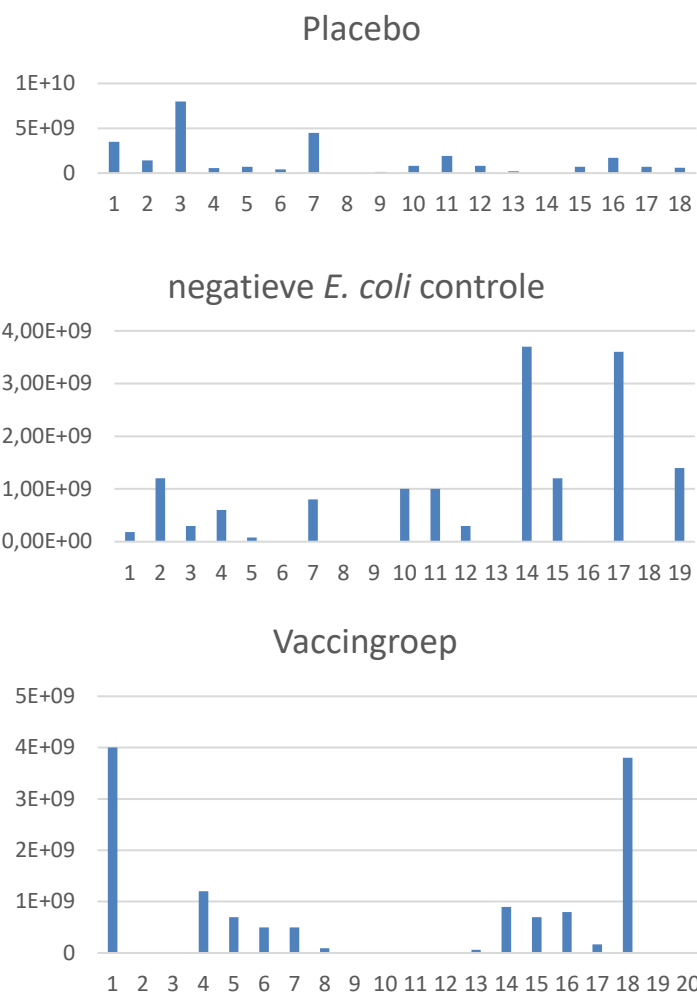
Uitleesparameter 1: aantal positieve dieren

- Groep 1 (Vaccin): 5/20 dieren niet gekoloniseerd met *Campylobacter*
- Groep 2 (*E. coli* negatieve controle): 5/18 dieren niet gekoloniseerd met *Campylobacter*
- Placebo (kolonisatiecontrole): 2/19 dieren negatief

Uitleesparameter 2: kolonievormende eenheden per gram mest

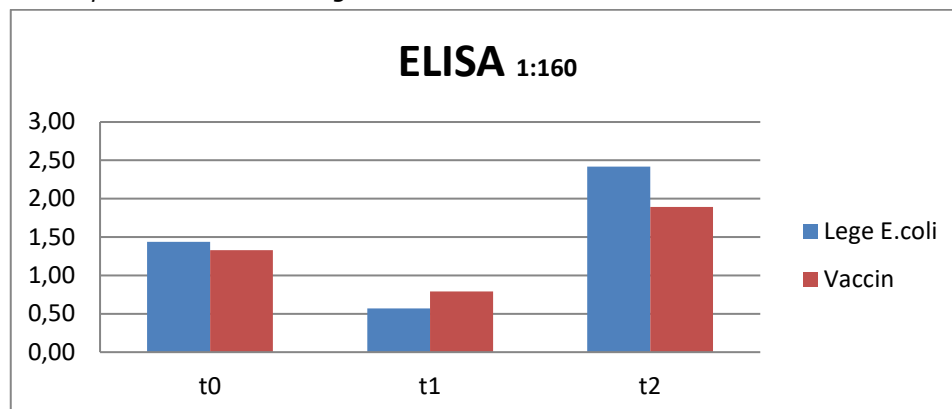
	Mean	Std.Err.	(95% Conf. Interval)	
Lege Coli	8,08E+08	2,55E+08	2,97E+08	1,32E+09
Vaccin	5,02E+08	1,93E+08	1,15E+08	8,88E+08
Placebo	1,49E+09	4,76E+08	5,25E+08	2,43E+09

Er is een borderline statistisch significant verschil tussen het vaccin en de placebo (volgens het "negative binomial regression model for censored outcome data") (IRR 2.48, 95%CI 0.98-6.26, $p=0.053$) echter niet tussen de gevaccineerde groep en de groep gevaccineerd met de controle *E. coli* ($p=0.355$).



Figuur 1: kolonisatie van de individuele dieren (positiviteit en aantal *Campylobacter* per gram caecuminhoud in de drie groepen (placebogroep, negatieve *E. coli* groep, vaccingroep). In de dieren waarbij geen aantal is aangegeven is geen *Campylobacter* aangetoond.

Uitleesparameter 3: serologie



Y-as: extinctie (OD)

T1= dag 23

T2= dag 32

Er is geen verschil in antilichaamrespons

4 Discussie

Het ontwikkelen van een vaccin tegen *Campylobacter* is moeilijk en vele pogingen met verschillende benaderingen hebben tot nu toe gefaald. Naast de praktische vraag welk antigeen voldoende immunogeen is, is er ook de vraag welke respons benodigd is om een effect in het veld te bewerkstelligen. Omdat onbekend is welke dosis de stallen binnengebracht wordt, is ook onduidelijk tegen welke blootstelling beschermd moet worden. We gaan in de studies uit van een bescherming op koppelniveau: als het overgrote deel van de dieren een hogere blootstelling nodig heeft om gekoloniseerd te raken dan zonder vaccinatie, verwachten we een vermindering van het aantal positieve koppels als dit vaccin gebruikt zou worden. In deze studie is gekozen voor een benadering die in Canada als veelbelovend is aangegeven (Nothaft et al., 2016; Nothaft et al., 2017). Mondeling heeft Christine Szymanski echter aangegeven dat de studies wel gecompliceerd worden door dieren die niet responderen na vaccinatie. Deze gegevens zijn pas meer recent beschikbaar gekomen en zouden mogelijk ook ten grondslag kunnen liggen aan de resultaten in deze studie.

De challenge dosis is dusdanig gekozen dat (uit ervaring) niet alle dieren gekoloniseerd raken in de niet beschermde groep. Er is hiervoor gekozen omdat bescherming ten gevolge van vaccinatie gemeten kan worden doordat er minder dieren gekoloniseerd raken; het voorkomt "overdosering". De dosis die is toegediend heeft in de placebo groep geleid tot de gewenste fractie gekoloniseerde dieren in de groep. Technisch gezien is het experiment goed verlopen. In dit experiment bleek er echter geen duidelijk statistisch verschil tussen de gevaccineerde en de controlegroepen qua gekoloniseerde dieren. De load in de caeca verschilt wel maar het aantal *Campylobacter* per gram caecuminhoud haalt de gewenste reductie niet. Deze zou immers minstens 2 log (100-voud) moeten zijn om enig effect te hebben op de reductie van het aantal humane gevallen. Er is geen verschil in serologische respons tussen de verschillende groepen. Samenvattend blijkt dat er in dit pilotexperiment geen effect is te zien van vaccinatie.

5 Referenties

EFSA, Scientific Opinion on *Campylobacter* in broiler meat production: control options and performance objectives and/or targets at different stages of the food chain. EFSA Journal 2011;9(4):2105

Nothaft H, Perez-Muñoz ME, Gouveia GJ, Duar RM, Wanford JJ, Lango-Scholey L, Panagos CG, Srithayakumar V, Plastow GS, Coros C, Bayliss CD, Edison AS, Walter J, Szymanski CM. Co-administration of the *Campylobacter jejuni* N-glycan based vaccine with probiotics improves vaccine performance in broiler chickens. Appl Environ Microbiol. 2017 Sep 22. pii: AEM.01523-17. doi: 10.1128/AEM.01523-17. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 28939610; PubMed Central PMCID: PMC5691412.

Nothaft H, Davis B, Lock YY, Perez-Munoz ME, Vinogradov E, Walter J, Coros C, Szymanski CM. Engineering the *Campylobacter jejuni* N-glycan to create an effective chicken vaccine. Sci Rep. 2016 May 25;6:26511. doi: 10.1038/srep26511. PubMed PMID: 27221144; PubMed Central PMCID: PMC4879521.

de Zoete MR, van Putten JP, Wagenaar JA. Vaccination of chickens against *Campylobacter*. Vaccine. 2007 Jul 26;25(30):5548-57. Epub 2006 Dec 15. Review. PubMed PMID: 17224215.

Radomska KA, Vaezirad MM, Verstappen KM, Wösten MM, Wagenaar JA, van Putten JP. Chicken Immune Response after In Ovo Immunization with Chimeric TLR5 Activating Flagellin of *Campylobacter jejuni*. PLoS One. 2016 Oct 19;11(10):e0164837. doi: 10.1371/journal.pone.0164837. eCollection 2016. PubMed PMID: 27760175; PubMed Central PMCID: PMC5070796.

Vaezirad MM, Koene MG, Wagenaar JA, van Putten JPM. Chicken immune response following in ovo delivery of bacterial flagellin. Vaccine. 2018 Apr 12;36(16):2139-2146. doi: 10.1016/j.vaccine.2018.02.116. Epub 2018 Mar 9. PubMed PMID: 29530633.

Bijlage 1. European perspective on Campylobacter control. National Symposium on Campylobacter Intervention; 98th annual Conference of Research Workers in Animal Diseases. Chicago, 3 December 2017

European perspective on *Campylobacter* control

Prof. Jaap Wagenaar DVM, PhD Dipl ECVM

Department of Infectious Diseases and Immunology,
Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University, Utrecht - NL

Wageningen Bioveterinary Research, Lelystad - NL
j.wagenaar@uu.nl

Outline

- Data for risk management
 - Trends in *Campylobacter* infections in the EU
 - Scientific Opinions of the EFSA
- Implementation of risk reduction measures
- Consumers



Data for risk management



APPROVED: 21 November 2016
doi: 10.2903/j.efsa.2016.4634

The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015

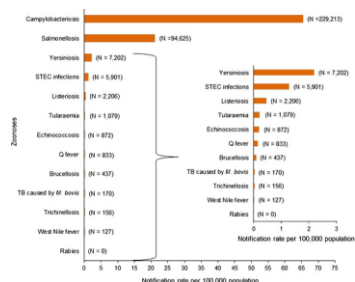
European Food Safety Authority and
European Centre for Disease Prevention and Control

Abstract

This report of EFSA and the European Centre for Disease Prevention and Control presents the results of the zoonoses monitoring activities carried out in 2015 in 32 European countries (28 Member States (MS) and four non-MS). *Campylobacteriosis* was the most commonly reported zoonosis and the increasing European Union (EU) trend for confirmed human cases since 2008 continued. In food, the occurrence of *Campylobacter* remained high in broiler meat. The decreasing EU trend for confirmed human salmonellosis cases since 2008 continued, but the proportion of human *Salmonella* Enteritidis cases increased. Head H5 met their *Salmonella* reduction targets for poultry. More *S. Enteritidis* isolates were reported and *S. infantis* was confirmed as the most frequent serovar isolated from domestic food. In foodstuffs, the EU level *Salmonella* non-compliance for minced meat and most preparations from poultry was low. Despite the significant increasing trend since 2008, the number of human listeriosis cases stabilised in 2015. In ready-to-eat foods, *Listeria monocytogenes* seldom exceeded the EU food safety limit. The decreasing EU trend for confirmed yersiniosis cases since 2008 continued. Positive findings for *Yersinia* were mainly reported in pig meat and products thereof. The number of



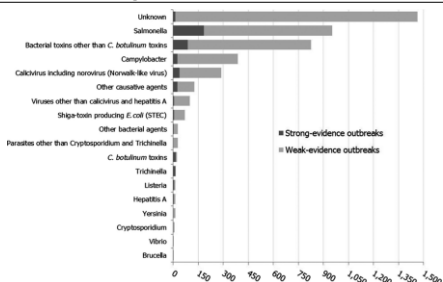
Reported numbers and notification rates of confirmed human zoonoses cases in the EU, 2015



EFSA Journal
Volume 14, Issue 12, 16 DEC 2016 DOI: 10.2903/j.efsa.2016.4634
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2016.4634/full#efsa24634-fig-0001>



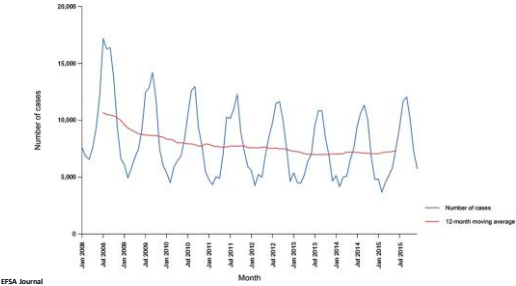
Distribution of food-borne and waterborne outbreaks per causative agent in the EU Member States, 2015



EFSA Journal
Volume 14, Issue 12, 16 DEC 2016 DOI: 10.2903/j.efsa.2016.4634
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2016.4634/full#efsa24634-fig-0002>



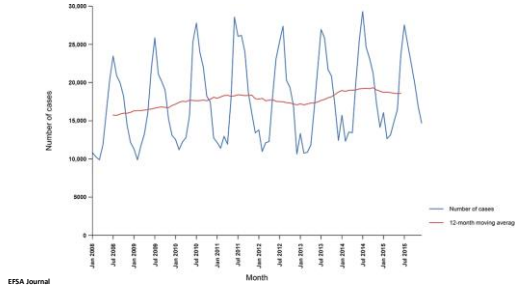
Trend in reported confirmed human cases of non-typhoidal salmonellosis in the EU/EEA 2008–2015



EFSA Journal
Volume 14, Issue 12, 16 DEC 2016 DOI: 10.2903/j.efsa.2016.4634
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2016.4634/fulltext> 24634-fig.0003



Trend in reported confirmed human cases of campylobacteriosis in the EU/EEA, 2008–2015



EFSA Journal
Volume 14, Issue 12, 16 DEC 2016 DOI: 10.2903/j.efsa.2016.4634
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2016.4634/fulltext> 24634-fig.0004



EU – baseline study in 2008

- Includes flocks and carcasses of broilers
- Objectives:
 - 'baseline' prevalence in all member states in ceca and carcasses (neck skins)
 - Enumeration of *Campylobacter* from neck skins
- Inclusion: 10,132 flocks in 561 slaughterhouses in 26 EU member states (+NO&CH)

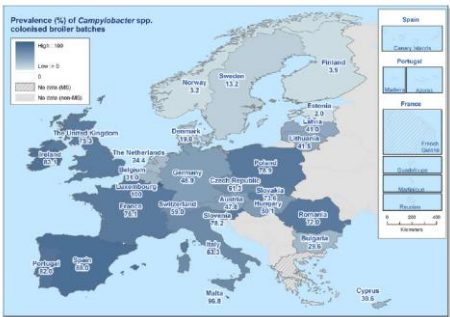
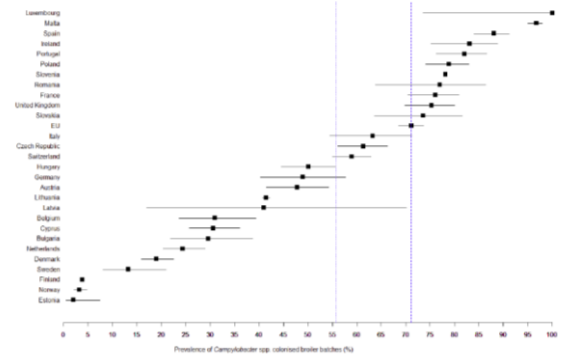


Figure 3. Prevalence of *Campylobacter*-colonised broiler flocks in the EU*, 2008

* Greece did not participate in the baseline survey and two non-MSs, Norway and Switzerland, participated.



Quantification of measures



Commission requested EFSA advice (June 2008)

- *To identify and rank the possible control options within the broiler meat production chain, taking into account the expected efficiency in reducing human campylobacteriosis [...]*
- BIOHAZ Panel within EFSA established an expert *ad hoc* group
- No economic considerations
- Publication March 2011



Universiteit Utrecht



Universiteit Utrecht



World Health Organization



WAGENINGEN UNIVERSITY & RESEARCH

Selected interventions to be analysed by mathematical model

- Biosecurity
- Fly screens
- Discontinued thinning
- Reduction of slaughter age
- Reducing colonization
- Decontamination
- Scheduled slaughter



Universiteit Utrecht



World Health Organization



WAGENINGEN UNIVERSITY & RESEARCH

Approach: Identify and rank possible control options

- Description of risk factors and interventions (based on literature review and EU baseline study)
- Estimation of effect of interventions on risk reduction of human campylobacteriosis and ranking (based on quantitative mathematical model)
- Description of advantages and disadvantages of potential interventions (based on expert opinion time scale based on current availability of interventions)



Universiteit Utrecht



World Health Organization



WAGENINGEN UNIVERSITY & RESEARCH

Effect of interventions based on QMRA

- 100% risk reduction can be achieved by irradiation/cooking
- > 90% risk reduction can be achieved by freezing for 2-3 weeks or reduction of the concentration in intestines at slaughter by > 3 log units;
- 50-90% risk reduction can be achieved by freezing for 2-3 days, hot water or chemical carcass decontamination with lactic acid, acidified sodium chlorite or trisodium phosphate
- 50-90% risk reduction by fly screens on farms (based on data from Denmark only)
- Up to 50% risk reduction by modifications of primary production,
 - restriction of slaughter age to a max 28 days (only indoor flocks)
 - discontinued thinning



Universiteit Utrecht

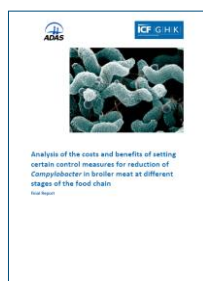


World Health Organization



WAGENINGEN UNIVERSITY & RESEARCH

Economic aspects



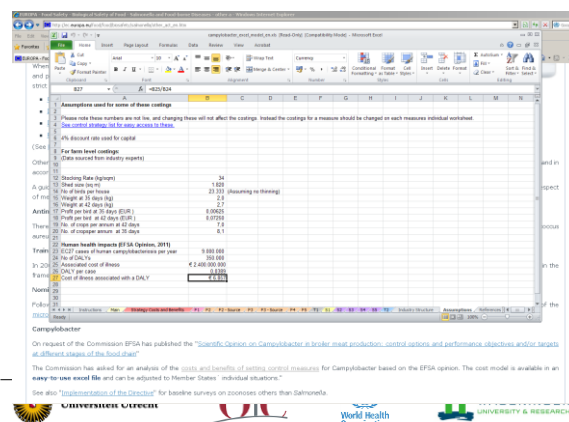
Universiteit Utrecht



World Health Organization



WAGENINGEN UNIVERSITY & RESEARCH



Universiteit Utrecht



World Health Organization



WAGENINGEN UNIVERSITY & RESEARCH

Costs and benefits analysis

ID	Name	Reduction in incidence (%)	EU cost of control € million	EU cost of illness saved € million	EU Net cost per DALY averted €
F1	Enhanced Biosecurity	44%	36.7	333.8	-5.102
F2	Early Slaughter	15%	288.1	116.1	10.154
F3	No Thinning	12%	43.6	87.4	-3.438
F4	Vaccination	64%	297.7	478.8	-2.594
F5	Bacteriocins	64%	297.7	478.8	-2.594
S1	Best practice hygiene	23%	54.0	166.1	-4.626
S2	Chemical Decontamination	60%	116.1	442.9	-5.060
S3	Freezing (2-3 weeks)	93%	346.5	682.9	-3.377
S4	Hot Water	70%	272.2	516.8	-3.245
S5	UV Irradiation	100%	341.3	738.2	-3.687



Universiteit Utrecht



WAGENINGEN
UNIVERSITY & RESEARCH



New Campylobacter Process Hygiene Criterion

Pamina M. Suzuki

Unit G4 - Food hygiene

Directorate G - Crisis management in food, animals and plants
DG Health and Food Safety (DG SANTE)

20

Health and Food Safety

REGULATIONS

COMMISSION REGULATION (EU) 2017/1495
of 23 August 2017
amending Regulation (EC) No 2073/2005 as regards *Campylobacter* in broiler carcasses
(Text with EEA relevance)

21

Health and Food Safety

Background

- high public health relevance of *Campylobacter*: most frequently reported foodborne pathogen in the EU
- broiler meat identified as a main cause of campylobacteriosis cases (20%-30%) (2010 EFSA opinion)
- 2012 EFSA opinion suggests the introduction of a PHC for *Campylobacter* on broiler carcasses:
 - if <1000 cfu/g → 50% public health risk reduction
- Measures at slaughterhouse: best cost-effective control option (Cost-benefit analysis)

22

Health and Food Safety

Food category	Micro-organisms	Sampling plan		Limits	Analytical reference method	Stage where the criterion applies	Action in case of unsatisfactory results
		n	c				
2.1.9 Carcasses of broilers	<i>Campylobacter</i> spp.	50 (5)	c = 20 From 1.1.2020 c = 15; From 1.1.2025 c = 10	1 000 cfu/g	EN ISO 10272-2	Carcasses after chilling	Improvements in slaughter hygiene, review of process controls, of animals' origin and of the biosecurity measures in the farms of origin

The 50 samples shall be derived from **10 consecutive sampling sessions** in accordance with the sampling rules and frequencies laid down in this Regulation

Interpretation of the test results - *Campylobacter* spp. in poultry carcasses of broilers:
— satisfactory, if a maximum of c/n values are > m,
— unsatisfactory, if more than c/n values are > m.';

23

Health and Food Safety

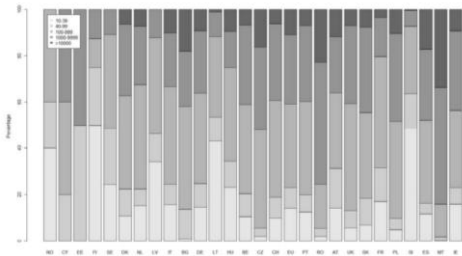


Figure 7. Barplot of the *Campylobacter* enumeration results distributions in broiler carcasses showing five categories (10-39; 40-99; 100-999; 1,000-9999; >10,000 cfu/g of neck skin together with breast skin) and excluding counts <10 cfu/g of neck skin together with breast skin, by country and in the EU, 2008



Universiteit Utrecht



WAGENINGEN
UNIVERSITY & RESEARCH



Sampling rules for Campylobacter & Salmonella

1. **Neck skins** from a minimum of **15** poultry carcasses shall be sampled at random after chilling during each sampling session.
2. Before examination, the neck skin samples from **at least three poultry carcasses from the same flock of origin** shall be **pooled into one sample of 26 g**. Thus, the neck skin samples form **5×26 g final samples** (26 g are needed to perform analyses for *Salmonella* and *Campylobacter* from one sample in parallel).
3. **Enumeration of *Campylobacter*** on selective plates.

Neck and
foot safety

25



Sampling rules for Campylobacter & Salmonella

1. **Neck skins** from a minimum of **15** poultry carcasses shall be sampled at random after chilling during each sampling session.
2. Before examination, the neck skin samples from **at least three poultry carcasses from the same flock of origin** shall be **pooled into one sample of 26 g**. Thus, the neck skin samples form **5×26 g final samples** (26 g are needed to perform analyses for *Salmonella* and *Campylobacter* from one sample in parallel).
3. **Enumeration of *Campylobacter*** on selective plates.

Neck and
foot safety

26



If they do not meet the criterion

Food category	Micro-organisms	Sampling plan		Limits		Analytical reference method	Stage where the criterion applies	Action in case of unsatisfactory results
		n	c	m	M			
2.1.9 Carcasses of broilers	Campylobacter spp.	50 (*)	c = 20 From 1.1.2020 c = 15; From 1.1.2025 c = 10	1 000 cfu/g		EN ISO 10272-2	Carcasses after chilling	Improvements in slaughter hygiene, review of process controls, of animal's origin and of the biosecurity measures in the farms of origin

Neck and
foot safety

27



VERENIGING VAN DE NEDERLANDSE PLUIMVEEDERIJSECTOR

Data of the Dutch processing industry (NEPLUVI)

Mark den Hartog



VERENIGING VAN DE NEDERLANDSE PLUIMVEEDERIJSECTOR

Improving results 2009-2016

	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
Breast skin >1,000 cfu/gram	9.8%	10.0%	8.8%	8.1%	8.0%	7.0%	5.0%	3,9%
Breast skin >10,000 cfu/gram	1.5%	1.3%	1.0%	0.6%	1.0%	0.3%	0.1%	0,4%
% positive flocks			53.0%	49.3%	46.3%	48.8%	43.1%	44,5%



VERENIGING VAN DE NEDERLANDSE PLUIMVEEDERIJSECTOR

Measures at slaughterhouse level

1. Settings of equipment adjusted to the flock size
2. Increased frequency of cleaning the equipment
3. Optimisation proces steps like cloaca cutting equipment, inside/outside washers and ventric cutter
4. Placing extra washing cabinets
5. Placing extra plucking units
6. Investing in new equipment

Behavior

- Feed back to the farmers: if they know their status they are more willing to act?
- Adjusting slaughtermachines when a new flock comes in
- Consumers behavior to prevent contamination



Universiteit Utrecht



World Health Organization

WAGENINGEN
UNIVERSITY & RESEARCH

Take home messages

- Based on sound data from the EFSA (importance of *Campylobacter*, baseline data, effect of measures, economic analysis) a PHC will be introduced January 1st, 2018
- Most countries do not have baseline data yet (and shift from breast skin to neck skin)
- Challenges for the labs: enumeration of *Campylobacter*



Universiteit Utrecht



World Health Organization

WAGENINGEN
UNIVERSITY & RESEARCH

Dr. Henk van der Zee, Food Inspectorate, the Netherlands





