

Bemonstering van vleeskuikenstallen op *Campylobacter* na reiniging en ontsmetting tijdens leegstand

Marleen van der Most¹, Miriam Koene¹, Ewa Pacholewicz¹, Jan Cornelissen¹, Conny van Solt¹, Theo van Hattum², Jorine Rommers², Maudia Kiezebrink² en Peter van de Laar³

1 Wageningen Bioveterinary Research

2 Wageningen Livestock Research

3 Van Eck Bedrijfshygiëne B.V.

Dit onderzoek is uitgevoerd binnen de PPS 'Beheersing van *Campylobacter* in de pluimveesector' in het kader van Topsector Agri & Food (AF18112). Het betreft een publiek-private samenwerking, mede gefinancierd door de overheid (Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit, projectnummer BO-63-001-026) en het pluimveebedrijfsleven. Binnen de PPS werken de kennisinstellingen Wageningen Bioveterinary Research, Wageningen Livestock Research en de Faculteit Diergeneeskunde van de Universiteit Utrecht samen met NEPLUVI, PLUIMNED, LTO-NOP en NVP aan de uitvoering van het onderzoek.

Wageningen Bioveterinary Research
Lelystad, november 2023

Openbaar

WUR Rapport 2346850

Most van der, M., M. Koene, E. Pacholewicz, J. Cornelissen, C. van Solt, T. van Hattum, J. Rommers, M. Kiezebrink en P. van de Laar, 2023. *Bemonstering van vleeskuikenstallen op Campylobacter na reiniging en ontsmetting tijdens leegstand*. Lelystad, Wageningen Bioveterinary Research, Report.

Dit rapport is gratis te downloaden op <https://doi.org/10.18174/642386> of op www.wur.nl/bioveterinary-research (onder Wageningen Bioveterinary Research publicaties).

© 2023 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.

Inhoud

Samenvatting	6
1 Inleiding	7
2 Opzet van het onderzoek	8
2.1 Deelnemende bedrijven	8
2.2 Mestmonsters	9
2.3 De stalbemonsteringen	9
2.3.1 Uitvoering stalbemonsteringen	9
2.3.2 Locaties stalbemonsteringen	9
2.3.3 Logistiek	10
2.4 Laboratoriumonderzoek	10
2.4.1 <i>Campylobacter</i> kweek	10
2.4.2 Levend-dood PCR	10
2.4.3 Totaal kiemgetal	11
2.5 Opvolging bedrijven	11
2.5.1 Identificatie <i>Campylobacter</i> -stammen met behulp van MALDI Biotyper	11
2.5.2 Identificatie <i>Campylobacter</i> -stammen met behulp van Whole Genome Sequencing (WGS)	11
3 Resultaten	12
3.1 Deelnemende bedrijven	12
3.2 Laboratoriumonderzoek	13
3.2.1 <i>Campylobacter</i> kweek	13
3.2.2 Levend-dood PCR	13
3.2.3 Totaal kiemgetal	13
3.3 Opvolging bedrijven	13
3.3.1 Identificatie <i>Campylobacter</i> -stammen met behulp van MALDI Biotyper	14
3.3.2 Genotypering <i>Campylobacter</i> -stammen met behulp van Whole Genome Sequencing (WGS)	14
4 Discussie en conclusies	15
Dankwoord 17	
Literatuur	19
Bijlage 1. Informatiebrief pluimveehouders	20
Bijlage 2. Aanmeldformulier vleeskuikenbedrijven	21
Bijlage 3. Protocol monsternamen mest (pluimveehouder)	22
Bijlage 4. Protocol monsternamen stal (Van Eck en WUR)	23
Bijlage 5. Inzendformulier stalmonsters na reiniging	25
Bijlage 6. Inzendformulier stalmonsters na ontsmetting	27

Samenvatting

Campylobacter is de meest voorkomende bacteriële veroorzaker van voedselinfecties bij de mens. Pluimvee is daarbij een zeer belangrijke bron van besmetting. In het belang van de volksgezondheid is het daarom gewenst om in de pluimveesector het aantal *Campylobacter* besmettingen te verminderen.

Een koppel vleeskuikens kan tijdens een ronde besmet worden met *Campylobacter* door insleep van de bacterie vanuit de omgeving. Of de overdracht van *Campylobacter* tussen twee opeenvolgende rondes in één stal ook een rol speelt bij de besmetting, is onzeker. In een samenwerking tussen Wageningen University & Research en Van Eck Bedrijfshygiëne B.V. is in 2021 een onderzoek uitgevoerd, met als doel te onderzoeken in hoeverre er levende *Campylobacter* na het wegladen van een *Campylobacter* positief koppel, ondanks reiniging en desinfectie, in de stal kan achterblijven en een bron van besmetting kan zijn voor een volgend koppel. Dit is onderzocht door vleeskuikenstallen, na het wegladen van een positief koppel, uitgebreid te bemonsteren tijdens de leegstandsperiode en deze monsters te onderzoeken op aanwezigheid van levende *Campylobacter*. Hierbij is zowel gekeken naar kweekbare als naar zogenoemde viable but non-culturable (VBNC; 'levend maar niet kweekbare') *Campylobacter*. Deze VBNC's zijn mogelijk nog steeds infectieus en dus in staat om een nieuw koppel vleeskuikens te besmetten.

In deze studie is in geen van de stallen van de deelnemende bedrijven kweekbare *Campylobacter* teruggevonden tijdens de leegstandsperiode. Ook is er geen VBNC-*Campylobacter* aangetoond in de stalmonsters genomen na ontsmetting. Deze bevindingen laten zien dat het achterblijven van levende *Campylobacter* in een stal geen grote rol speelt bij de overdracht van *Campylobacter* tussen koppels vleeskuikens. Denkend aan de grote hoeveelheden *Campylobacter* die worden uitgescheiden in de stal door een *Campylobacter* positief koppel, is het gunstig dat er in deze studie aan het eind van de leegstandsperiode geen levende *Campylobacter* meer is teruggevonden. Wel is het belangrijk te realiseren dat een *Campylobacter* positief koppel kan bijdragen aan een grotere besmettingsdruk in de directe omgeving van de stal, waardoor er gemakkelijker herintroductie plaats kan vinden in de stal tijdens een volgende ronde.

Nadere genetische analyses van de *Campylobacter*-stammen gevonden in de mestmonsters genomen voor deze studie, laten zien dat er op één bedrijf verschillende *Campylobacter*-stammen tegelijkertijd aanwezig kunnen zijn. Verder hoeft het aantonen van *Campylobacter* in twee opeenvolgende koppels op een bedrijf niet per definitie te betekenen dat het om dezelfde stam gaat. Deze bevindingen benadrukken het belang om bij onderzoek naar transmissieroutes van *Campylobacter* rekening te houden met de mogelijke genetische diversiteit aan *Campylobacter*-stammen binnen een koppel vleeskuikens en op een vleeskuikenbedrijf.

1 Inleiding

Campylobacter is de meest voorkomende bacteriële veroorzaker van voedselinfecties in Nederland en kip is daarbij een belangrijke bron van besmetting. In de periode 2015 -2023 is in de vorm van een Publieke Private Samenwerking (PPS) tussen de pluimveesector en onderzoeksinstituten van WUR¹ samengewerkt aan de beheersing van *Campylobacter* in de pluimveesector. Vanuit de PPS zijn verschillende onderzoekslijnen uitgevoerd gericht op zowel de primaire vleeskuikensector als de pluimveeverwerkende sector.

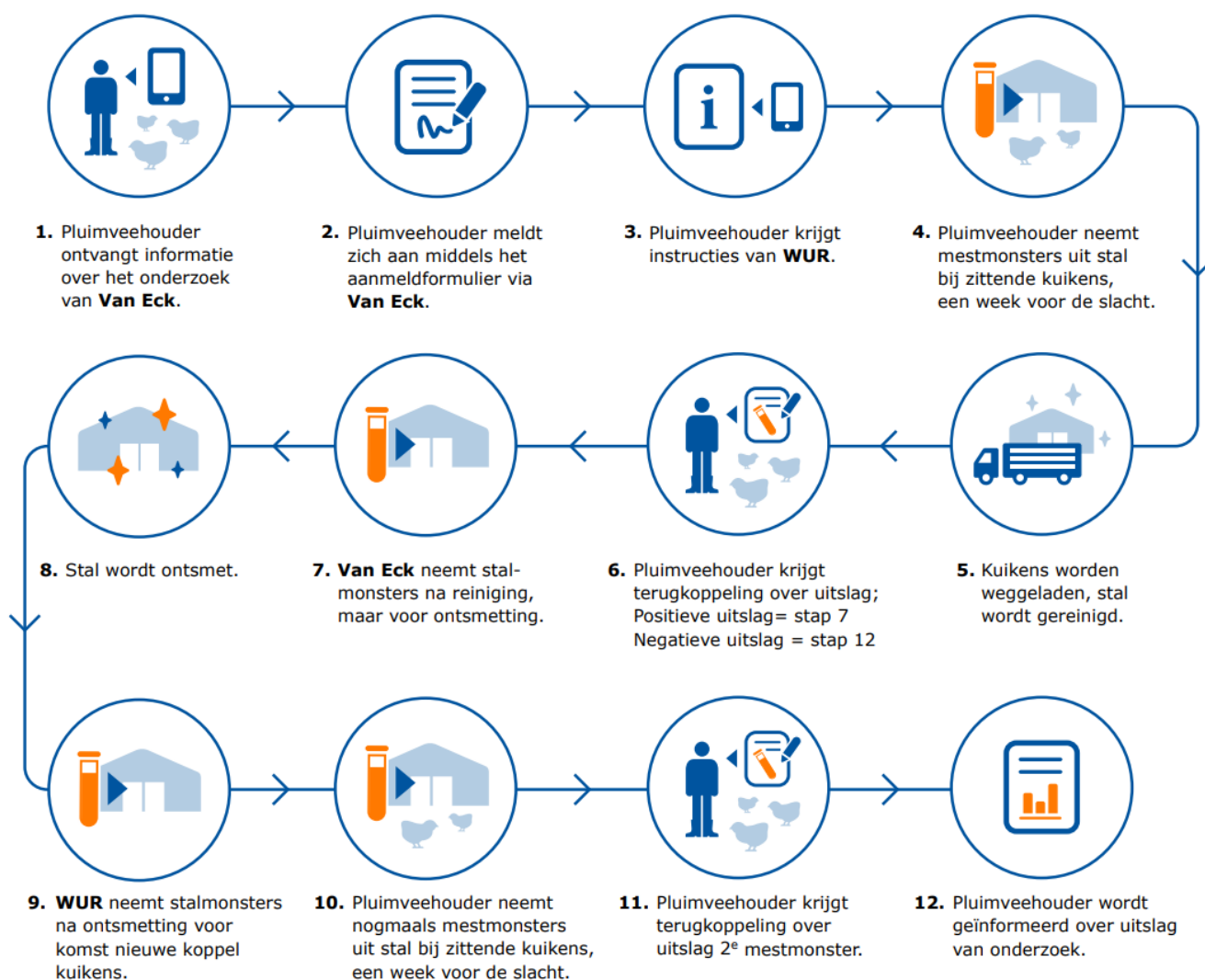
Een belangrijke onderzoekslijn binnen de PPS was gebaseerd op de monitoring van vleeskuikenbedrijven. Om inzicht te krijgen in de transmissieroutes van *Campylobacter* op vleeskuikenbedrijven werden in deze onderzoekslijn gedurende een periode van 2017 tot en met 2020 in totaal 25 Nederlandse vleeskuikenbedrijven intensief gemonitord. Een opvallende bevinding die bij deze monitoringsstudie naar voren kwam is dat de kans op een *Campylobacter*-besmetting in een koppel groter was wanneer het voorgaande koppel in dezelfde stal ook *Campylobacter* positief was. Ook in de wetenschappelijke opinies van de Europese Autoriteit voor Voedselveiligheid (EFSA) wordt de overdracht van *Campylobacter* tussen opeenvolgende koppels genoemd als risicofactor voor een *Campylobacter*-besmetting in een vleeskuikenkoppel (EFSA et al., 2020). In de wetenschap dat een *Campylobacter* positief koppel vleeskuikens grote hoeveelheden van de bacterie uitscheidt, roept dit de vraag op in hoeverre er levende *Campylobacter* na het wegladen van een positief koppel, ondanks reiniging en desinfectie, in de stal kan achterblijven en een bron van besmetting kan zijn voor het volgende koppel.

Dit rapport beschrijft een studie waarin de mogelijkheid van overdracht van *Campylobacter* tussen opeenvolgende koppels vleeskuikens door in de stal achtergebleven *Campylobacter*, is onderzocht door vleeskuikenstallen te bemonsteren op de aanwezigheid van levende *Campylobacter* na reiniging en ontsmetting tijdens de leegstandperiode. Om antwoord te kunnen geven op de vraag of er *Campylobacter*, na het wegladen van een positief koppel, kan achterblijven in de stal, zijn enkel vleeskuikenstallen bemonsterd waarbij was aangetoond dat het geleverde koppel *Campylobacter* positief was. Deze studie berust op een samenwerking tussen Van Eck Bedrijfshygiëne B.V. en Wageningen University & Research. Tot de diensten van Van Eck Bedrijfshygiëne B.V. behoort onder andere de uitvoering van de ontsmetting van vleeskuikenstallen. Via het klantenbestand van dit ontsmettingsbedrijf zijn vleeskuikenhouders gevraagd om mee te werken aan het onderzoek.

¹ In deze Publieke Private Samenwerking (PPS) werd de pluimveesector vertegenwoordigd door de Nederlandse Organisatie van Pluimveehouders van Land- en Tuinbouworganisatie Nederland (LTO-NOP), Nederlandse Vakbond Pluimveehouders (NVP), AVINED en de Vereniging van de Nederlandse Pluimveeverwerkende Industrie (NEPLUVI) en werd samengewerkt met onderzoeksinstituten Wageningen Bioveterinary Research (WBVR) en Wageningen Livestock Research (WLR). Daarnaast was de Faculteit Diergeneeskunde van Universiteit Utrecht en de overheid (ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit, ministerie van Volksgezondheid, Welzijn en Sport) inhoudelijk betrokken.

2 Opzet van het onderzoek

De studieopzet is uitgewerkt in een stroomschema, Figuur 1. In de volgende paragrafen worden de afzonderlijke onderdelen van de studieopzet verder toegelicht.



Figuur 1. Stroomschema studieopzet

2.1 Deelnemende bedrijven

De vleeskuikenbedrijven die zijn benaderd voor deelname aan deze studie behoorden allemaal tot het klantenbestand van Van Eck Bedrijfshygiëne B.V., voor de rest van dit rapport afgekort tot Van Eck. De studie werd door Van Eck bij pluimveehouders onder de aandacht gebracht door middel van een informatiebrief over de studieopzet (Bijlage 1). Voor verdere toelichting en vragen over de studie konden pluimveehouders terecht bij een voor deze studie aangewezen contactpersoon en tevens studiecoördinator werkzaam bij Wageningen Livestock Research (WLR). Aangezien de kans op *Campylobacter*-besmettingen bij vleeskuikens groter is in de zomermaanden in vergelijking met de rest van het jaar, is Van Eck in juni 2021 begonnen met het werven van pluimveebedrijven met als richtlijn om in augustus, september en eventueel oktober de stalbemonsteringen uit te kunnen voeren.

Na toezegging van deelname aan de studie werd voor ieder bedrijf door Van Eck een aanmeldformulier (Bijlage 2) ingevuld en dit formulier werd gedeeld met de studiecoördinator bij WLR. De studiecoördinator verzorgde de pluimveehouders vervolgens van de nodige instructies, zowel telefonisch als door het toesturen van een bemonsteringsprotocol voor het nemen en bewaren van mestmonsters (Bijlage 3).

2.2 Mestmonsters

Om de overlevingskansen van *Campylobacter* tijdens de leegstand te onderzoeken, zijn alleen stallen met *Campylobacter* positieve koppels onderzocht. Pluimveehouders werden gevraagd om mestmonsters te nemen ongeveer een week voor de kuikens naar de slacht gingen. Om de vindkans van *Campylobacter*-positieve koppels te vergroten, werden pluimveehouders verzocht om mestmonsters te nemen in alle stallen aanwezig op het bedrijf. Het protocol voor het nemen en bewaren van de mestmonsters is opgenomen in Bijlage 3. De mestmonsters werden vervolgens dezelfde dag per koerier verstuurd naar het nationaal referentielaboratorium voor *Campylobacter*, Wageningen Bioveterinary Research, waar zij door middel van kweek werden onderzocht op de aanwezigheid van *Campylobacter*.

2.3 De stalbemonsteringen

Per bedrijf werden maximaal twee *Campylobacter* positieve stallen geselecteerd voor de uitgebreide stalbemonsteringen tijdens de leegstandsperiode. Iedere deelnemende stal werd gedurende één leegstandsperiode tweemaal bemonsterd; de eerste keer na reiniging van de stal maar voor ontsmetting en de tweede keer na ontsmetting van de stal en zo kort mogelijk voor de komst van de nieuwe kuikens. De eerste stalbemonstering was met name bedoeld om meer inzicht te krijgen in het effect van reinigen alleen op de aanwezigheid en overleving van *Campylobacter*. Op basis van de resultaten van de tweede stalbemonstering kon worden onderzocht of, en in welke mate, er overdracht van levende *Campylobacter* kan plaatsvinden tussen twee opeenvolgende rondes in één stal.

2.3.1 Uitvoering stalbemonsteringen

Voor de eerste en de tweede stalbemonstering werd hetzelfde bemonsteringsprotocol aangehouden. Dit protocol is opgenomen in Bijlage 4. De eerste stalbemonstering werd uitgevoerd door werknemers van Van Eck, de tweede stalbemonstering door een vaste monsternemer werkzaam bij WLR. Door deze studieopzet werd het aantal bedrijfsbezoeken door externe partijen geminimaliseerd en kon worden gegarandeerd dat de eerste stalbemonstering werd uitgevoerd vlak voor ontsmetting. De tweede stalbemonstering vond plaats op afspraak met de pluimveehouder waarbij werd nagestreefd deze monsternamen uit te voeren zo kort mogelijk voor de komst van de nieuwe kuikens.

De werknemers die verantwoordelijk waren voor monsternamen bij Van Eck en de monsternemer van WLR zijn voorafgaand aan de studie op gelijke wijze geïnstrueerd over het uitvoeren van de stalbemonsteringen tijdens een gezamenlijk bedrijfsbezoek. Dit bedrijfsbezoek vond plaats binnen een zogenaamde pilotstudie om de onderzoeksopzet in de praktijk te testen en optimaliseren.

2.3.2 Locaties stalbemonsteringen

De volgende locaties zijn bemonsterd: de vloer, het onderste deel van de binnenmuren, de buitenzijde van de inlaatkleppen, de vloer van de overdekte uitloop (indien aanwezig), naden en/of kieren in de vloer of op de overgang van vloer naar muur en de binnenkant van de waterlijn. Binnen deze studieopzet is er dus voor gekozen om enkel *in de stal* locaties waar *Campylobacter* zich mogelijk schuil kan houden tijdens de leegstand te bemonsteren. De buitenzijdes van de inlaatkleppen vormen hierop een uitzondering aangezien deze in rechtstreekse verbinding staan met buiten. Deze locatie is meegenomen om te beoordelen of de inlaatkleppen waren opgenomen in de reinigings- en ontsmettingsprotocollen van de verschillende stallen. Tijdens de eerste en tweede monsternamen zijn dezelfde locaties in de stallen bemonsterd, maar dit hoefde niet per se exact dezelfde plekken te zijn.

2.3.3 Logistiek

De monsters genomen in de vleeskuikenstallen werden op de dag van monsternamen per koerier of door de monsternemer zelf getransporteerd naar Wageningen Bioveterinary Research voor onderzoek op de aanwezigheid van *Campylobacter*. Deze monsters werden vergezeld door een door de monsternemer ingevuld inzendformulier, waarin gevraagd werd om aanvullende informatie over de monsternamen en het gehanteerde protocol van reiniging dan wel ontsmetting. Beide inzendformulieren zijn opgenomen in Bijlage 5 en Bijlage 6.

2.4 Laboratoriumonderzoek

Om een bron van besmetting te kunnen zijn voor een nieuw koppel vleeskuikens, moet de in de stal achtergebleven *Campylobacter* de leegstandsperiode overleven. Voor het aantonen van levende *Campylobacter* zijn de stalmonsters onderzocht door middel van kweek.

Een deel van de monsters is daarnaast ook met een alternatieve methode getest. Van *Campylobacter* is namelijk bekend dat er een stadium bestaat waarin de bacterie nog wel in leven is, maar niet meer wil groeien bij de gebruikte kweekmethoden. Dit stadium, waarin de bacterie mogelijk wel infectieus is, wordt aangeduid als 'viable but non-culturable (VBNC) *Campylobacter*', wat simpelweg betekent 'levend maar niet-kweekbaar'. Stalmonsters die na ontsmetting zijn genomen zijn daarom aanvullend op de kweek onderzocht met een techniek waarmee VBNC's kunnen worden aangetoond.

2.4.1 *Campylobacter* kweek

In deze studie is niet alleen gekeken naar de aanwezigheid van levende *Campylobacter*, maar ook naar de hoeveelheid kweekbare *Campylobacter* in de verschillende stalmonsters. Voor dit doeleinde zijn van alle stalmonsters verdunningsreeksen gemaakt om op basis van kiemtellingen terug te kunnen rekenen hoeveel *Campylobacter* er in de oorspronkelijke monsters aanwezig was. Voor het kweken van *Campylobacter* is gebruik gemaakt van modified *Campylobacter* Blood Free Agar (mCCDA), een selectief voedingsmedium voor *Campylobacter*. Na een incubatieduur van 40-48 uur bij 41,5°C onder micro-aerobe omstandigheden (lage zuurstofspanning), zijn alle mCCDA-platen beoordeeld op de aanwezigheid van voor *Campylobacter* kenmerkende kolonie-groei. Met behulp van de MALDI Biotyper konden de verdachte kolonies al dan niet worden geïdentificeerd als *Campylobacter*. De MALDI Biotyper maakt tevens onderscheid tussen de *Campylobacter*-soorten *C. coli* en *C. jejuni*.

Om ook hele kleine hoeveelheden *Campylobacter* aan te kunnen tonen werd aanvullend gebruik gemaakt van een selectief ophopingsmedium (Preston). Na een incubatieduur van 18-24 uur bij 41,5°C onder micro-aerobe omstandigheden, zijn ook vanuit de buizen met ophopingsmedium mCCDA-platen beënt, geïncubeerd en afgelezen zoals hierboven beschreven.

2.4.2 Levend-dood PCR

De real-time PCR is een techniek waarmee de aanwezigheid en hoeveelheid van (*Campylobacter*-)DNA kan worden aangetoond. Normaal maakt de PCR geen onderscheid tussen het DNA van levende en dode bacteriën, maar door het gebruik van een speciale kleurstof, Propidium Monoazide (PMA), is dit wel mogelijk. Deze kleurstof kan alleen een cel (bacterie) binnendringen als de celmembraan niet meer intact is. Bij een dode bacterie is de celmembraan doorlaatbaar geworden en kan PMA na binnenkomst in de cel binden aan het DNA. Deze binding zorgt ervoor dat het DNA niet langer kan worden aangetoond door middel van de PCR techniek. Samengevat toont de PCR zonder PMA-behandeling het DNA aan van zowel dode als levende *Campylobacter* en toont de PCR na PMA-behandeling enkel het DNA aan van levende *Campylobacter*. Deze groep van levende *Campylobacter* bestaat zowel uit het kweekbare als het VBNC-stadium van de bacterie. Door de stalmonsters genomen na ontsmetting te onderzoeken met de zowel de *Campylobacter* kweek als de *Campylobacter* PCR na PMA-behandeling, kon per monster worden vastgesteld:

- de hoeveelheid kweekbare *Campylobacter* (d.m.v. de kweek)

- de hoeveelheid *Campylobacter* DNA afkomstig van levende *Campylobacter*; zowel het kweekbare als het VBNC-stadium (d.m.v. de PCR na PMA-behandeling)
- de hoeveelheid VBNC-*Campylobacter* ('levend maar niet kweekbaar'; staat gelijk aan de hoeveelheid levende *Campylobacter* minus de hoeveelheid kweekbare *Campylobacter*)

2.4.3 Totaal kiemgetal

Om een indruk te krijgen van het algemene niveau van bacteriële contaminatie van de bemonsterde plekken en zo de gevonden hoeveelheden *Campylobacter* in perspectief te kunnen plaatsen, is op de verdunningsreeksen van de individuele stalmonsters ook een totale (aerobe) kiemtelling uitgevoerd. Op deze manier kan worden beoordeeld welk aandeel *Campylobacter* inneemt in het totaal aantal aanwezige (aerobe) bacteriën.

2.5 Opvolging bedrijven

Ongeacht de resultaten van de stalbemonsteringen tijdens de leegstand, hebben de pluimveehouders in de deelnemende stallen, aan het einde van de ronde volgend op de stalbemonsteringen, wederom mestmonsters genomen voor onderzoek op aanwezigheid van *Campylobacter*. Deze mestmonsters werden genomen zoals beschreven onder het kopje '2.2 Mestmonsters' en onderzocht door middel van kweek. Het vinden van *Campylobacter* in de mestmonsters van twee opeenvolgende koppels vleeskuikens in dezelfde stal is geen direct bewijs dat er levende *Campylobacter* in de stal is achtergebleven. Het kan immers ook gaan om een andere *Campylobacter*-stam of om dezelfde *Campylobacter*-stam die opnieuw vanuit de omgeving in de stal is weten te komen. Om meer inzicht te krijgen in de mogelijke introductieroutes zijn de gevonden *Campylobacter*-stammen genetisch getypeerd om verschillen tussen de stammen vast te kunnen stellen.

2.5.1 Identificatie *Campylobacter*-stammen met behulp van MALDI Biotyper

Identificatie van de *Campylobacter*-stammen gevonden in de mestmonsters vond allereerst plaats met behulp van de MALDI Biotyper waarbij onderscheid werd gemaakt tussen de *Campylobacter*-soorten *C. coli* en *C. jejuni*.

2.5.2 Identificatie *Campylobacter*-stammen met behulp van Whole Genome Sequencing (WGS)

WGS is toegepast om de verschillende *Campylobacter*-stammen op DNA-niveau van elkaar te kunnen onderscheiden. De gevonden *Campylobacter*-stammen zijn door middel van de zogenaamde Multilocus Sequence Typing (MLST) methode ingedeeld in bestaande groepen (sequence types) op basis van de DNA-samenstelling van specifieke genen.

3 Resultaten

3.1 Deelnemende bedrijven

In de maanden augustus en september van 2021 zijn op 16 verschillende vleeskuikenbedrijven met in totaal 48 stallen, mestmonsters genomen en onderzocht op de aanwezigheid van *Campylobacter*.

In de mestmonsters van zeven van deze 16 vleeskuikenbedrijven (bedrijf A t/m G) is met de kweekmethode *Campylobacter* aangetoond. Van deze zeven *Campylobacter*-positieve bedrijven waren 16 van de in totaal 19 vleeskuikenstallen positief. Een overzicht van de resultaten is te zien in Tabel 1. Op vier van deze bedrijven werd *Campylobacter* gevonden in de mestmonsters van alle bemonsterde vleeskuikenkoppels op het bedrijf, bij de andere drie bedrijven testten er één stal negatief. Aangezien vooraf was bepaald in de leegstand maximaal twee stallen per bedrijf te bemonsteren, hebben de stalbemonsteringen na reiniging en na ontsmetting plaatsgevonden in 12 verschillende stallen.

Tabel 1 Overzicht resultaten *Campylobacter* kweek mestmonsters

Bedrijf	Aantal stallen aanwezig op bedrijf	Aantal stallen met een <i>Campylobacter</i> positief mestmonster	Identificatie <i>Campylobacter</i> met MALDI Biotyper		Aantal stallen bemonsterd tijdens leegstand
			<i>C. coli</i>	<i>C. jejuni</i>	
A	3	2	2	-	2
B	2	2	1	1	2
C	2	1	-	1	1
D	3	3	1	2	2
E	2	1	-	1	1
F	3	3	3	-	2
G	4	4	2	2	2
Totaal	19	16	9	7	12

3.2 Laboratoriumonderzoek

3.2.1 *Campylobacter* kweek

In geen van de stalmonsters (na reiniging of na desinfectie) is de aanwezigheid van kweekbare *Campylobacter* aangetoond. Zowel in de directe kweek (inclusief de verdunningsreeksen) als na een ophopingsstap, bleef in alle gevallen groei van *Campylobacter* uit.

3.2.2 Levend-dood PCR

Met de PCR na PMA-behandeling is in geen van de onderzochte stalmonsters (genomen na ontsmetting) *Campylobacter* DNA gedetecteerd. Met andere woorden in geen van deze stalmonsters is DNA aangetoond van levende *Campylobacter*; niet van kweekbare *Campylobacter* en niet van VBNC- *Campylobacter*.

3.2.3 Totaal kiemgetal

Voor alle individuele stalmonsters werd ook een totale (aerobe) kiemtelling uitgevoerd. Doel hiervan was om de hoeveelheden *Campylobacter* af te kunnen zetten tegen het algemene niveau van bacteriële contaminatie op de bemonsterde plekken. In vrijwel alle monsters die werden genomen na ontsmetting werden nog levende bacteriën gevonden. Echter de hoeveelheden varieerden, zowel binnen eenzelfde stal als tussen stallen van eenzelfde bedrijf. Zo waren er monsters met minder dan 100 eenheden (kve) tot meer dan 100 000 000 per ml.

3.3 Opvolging bedrijven

Ondanks dat er tijdens de leegstandsperiode géén levende *Campylobacter* is gevonden in de onderzochte stallen, werd op vier van de zeven bedrijven (bedrijf A, D, E en F) in de ronde volgend op de stalbemonsteringen (ronde 2), wederom *Campylobacter* aangetoond in de mestmonsters van één of meerdere stallen. Een overzicht van resultaten is weergegeven in Tabel 2.

Op één van deze vier bedrijven (bedrijf E) werd tijdens ronde 2 *Campylobacter* aangetoond in een andere stal dan tijdens ronde 1. Op de overige drie bedrijven (bedrijf A, D en F) werd in de twee opeenvolgende rondes *Campylobacter* aangetoond in dezelfde stal(len).

Tabel 2 Overzicht *Campylobacter* resultaten van twee opeenvolgende rondes (ronde 1 en ronde 2) van bedrijven A tot en met G voor de verschillende stallen (aangeduid met hun stalnummer). De aanwezigheid van *Campylobacter* werd vastgesteld d.m.v. kweek op mestmonsters.

Bedrijf	Stal-nrs met een <i>Campylobacter</i> positief mestmonster		Identificatie <i>Campylobacter</i> met MALDI Biotyper (stalnummer)			
	Ronde 1	Ronde 2	Ronde 1		Ronde 2	
			C. coli	C. jejuni	C. coli	C. jejuni
A	2, 3	3	2, 3	-	3	-
B	1,2	-	2	1	-	-
C	2	-	-	2	-	-
D	3, 4, 7	3, 4	4	3, 7	-	3, 4
E	1	2	-	1	2	-
F	1, 2, 3	2	1, 2, 3	-	2	-
G	1, 2, 3, 4	-	1, 3	2, 4	-	-

3.3.1 Identificatie *Campylobacter*-stammen met behulp van MALDI Biotyper

De resultaten van de MALDI Biotyper, zie Tabel 2, geven aan dat op bedrijf E de *Campylobacter*-stam gevonden in stal 1 tijdens ronde 1 niet dezelfde stam is als de *Campylobacter*-stam gevonden in stal 2 tijdens ronde 2. De eerste stam is immers geïdentificeerd als een *C. jejuni* en de tweede als een *C. coli*. Hetzelfde geldt voor de *Campylobacter*-stam gevonden op bedrijf D in stal 4 tijdens ronde 1 en de *Campylobacter*-stam gevonden in dezelfde stal tijdens ronde 2 (eerste stam *C. coli* en tweede stam *C. jejuni*).

In de overige drie stallen waar in twee opeenvolgende rondes *Campylobacter* werd aangetoond, werden de beide stammen door de MALDI Biotyper wel toegekend aan dezelfde *Campylobacter*-soort. Dit betreft stal 3 van bedrijf A, stal 3 van bedrijf D en stal 2 van bedrijf F.

3.3.2 Genotypering *Campylobacter*-stammen met behulp van Whole Genome Sequencing (WGS)

WGS is toegepast op de *Campylobacter*-stammen van bedrijf A en bedrijf F. Het was helaas niet mogelijk om WGS uit te voeren van de *Campylobacter*-stammen van bedrijf D, waardoor de stammen van dit bedrijf niet nader konden worden getypeerd.

- van bedrijf A zijn de drie *C. coli* stammen (ronde 1: stal 2 (ST 3016), ronde 1: stal 3 (ST 828) en ronde 2: stal 3 (ST 1445)) door middel van de Multilocus Sequence Typing (MLST) methode ingedeeld in drie afzonderlijke types. De verschillen zijn dusdanig dat kan worden gesteld dat het hier om drie verschillende stammen gaat.
- van bedrijf F behoren de vier *C. coli* stammen (ronde 1: stal 1 (ST 832), ronde 1: stal 2 (ST 832), ronde 1: stal 3 (ST 832) en ronde 2: stal 2 (ST 832)) op basis van de MLST methode tot hetzelfde sequence-type. Deze bevinding maakt het zeer waarschijnlijk dat het in alle vier de gevallen om dezelfde stam gaat.

4 Discussie en conclusies

Het doel van deze studie was te onderzoeken in hoeverre er bij *Campylobacter* positieve koppels, na reiniging en desinfectie van de stal, nog levende *Campylobacter* in de stal kan achterblijven en daarmee een bron van besmetting kan zijn voor een volgend koppel. Dit is onderzocht door vleeskuikenstallen, na het wegladen van een *Campylobacter* positief koppel, uitgebreid te bemonsteren tijdens de leegstandperiode en deze monsters te onderzoeken op zowel kweekbare als VBNC-*Campylobacter*. In deze studie is in geen van de stallen van de deelnemende bedrijven kweekbare *Campylobacter* teruggevonden tijdens de leegstandperiode. Ook zijn er in de onderzochte stalmonsters geen VBNC-*Campylobacter* aangetoond. Uit deze resultaten kan worden geconcludeerd dat overdracht van *Campylobacter* tussen twee opeenvolgende koppels vleeskuikens door in de stal achtergebleven levende *Campylobacter* hoogstwaarschijnlijk geen belangrijke rol speelt. Belangrijk is dat herintroductie vanuit de (directe) omgeving van de stal zeker mogelijk is. Dit wordt beschouwd als een aparte besmettingsroute en was geen onderdeel van deze studie.

In de huidige studie zijn locaties bemonsterd waarvan verwacht kan worden dat *Campylobacter* er goed kan overleven en die minder goed bereikbaar zijn voor reiniging en ontsmetting, denk aan een vochtige omgevingen van naden en kieren in vloeren of wanden. De resultaten van de algemene kiemtellingen laten inderdaad zien dat dit plaatsen zijn waar bacteriën kunnen achterblijven. Onze bevindingen dat er geen kweekbare campylobacters werden gevonden komt overeen met de bevindingen van een Ierse onderzoeksgroep (Battersby et al. 2016). Overigens werd bij een tweede studie van deze onderzoeksgroep wel kweekbare *Campylobacter* aangetoond in voer- en drinkwatervoorzieningen in vleeskuikenstallen na reiniging en ontsmetting tijdens de leegstandperiode (Battersby et al. 2017). Op basis van hun bevindingen ontstond binnen deze onderzoeksgroep de hypothese dat in de stal achtergebleven VBNC-*Campylobacter* mogelijk een bron van besmetting zou kunnen zijn voor een nieuw koppel vleeskuikens. De resultaten van de huidige studie geven echter geen aanwijzingen dat VBNC-*Campylobacter* een (belangrijke) rol speelt bij de transmissie van *Campylobacter* tussen opeenvolgende rondes.

Er bestaat geen standaard protocol voor het reinigen en ontsmetten van vleeskuikenstallen, dit kan per bedrijf en zelfs per stal (en per ronde) verschillen. Om een indruk te kunnen krijgen van de eventuele invloed van het reinigings- en ontsmettingsprotocol op de overlevingskansen van *Campylobacter*, waren aanvullende vragen opgenomen over de gebruikte protocollen op het inzendformulier stalmonsters na reiniging (Bijlage 5) en het inzendformulier stalmonsters na ontsmetting (Bijlage 6). Aangezien in geen van de onderzochte stalmonsters levende *Campylobacter* is teruggevonden, was het niet mogelijk een vergelijking te maken tussen het effect van verschillende reinigings- en ontsmettingsprotocollen op de overlevingskansen van *Campylobacter*. Om deze reden wordt hier in dit rapport niet verder op ingegaan, maar voor eventueel vervolgonderzoek is het belangrijk te realiseren dat niet ieder bedrijf hetzelfde reinigings- en ontsmettingsprotocol hanteert.

De bevindingen van deze studie brengen een positieve boodschap, namelijk dat er geen aanwijzingen zijn dat het achterblijven van levende *Campylobacter* in de stal een belangrijke besmettingsroute is voor vleeskuikens. Een besmetting met *Campylobacter* bij opeenvolgende koppels vleeskuikens kan worden veroorzaakt door een heel nieuwe besmetting van 'buitenaf', bijvoorbeeld via bezoekers of voertuigen, maar ook via een besmetting met *Campylobacter* die al langer aanwezig was op het bedrijf. Een positief koppel vleeskuikens scheidt grote hoeveelheden *Campylobacter* uit wat kan leiden tot een grotere besmettingsdruk in de directe omgeving van de stal, waardoor er waarschijnlijk gemakkelijk herintroductie plaats kan vinden vanuit de besmette omgeving naar de stal tijdens een volgende ronde. De aanwezigheid van levende *Campylobacter* in de nabije omgeving van de stal aan het einde van de leegstandperiode en bij aanvang van een nieuwe ronde is in de literatuur beschreven, locaties waarvoor dit is aangetoond zijn o.a. voorruimtes van stallen en de erfverharding rondom stallen (Battersby et al. 2016; Battersby et al. 2017). Het is om deze reden van belang dat in het reinigings- en ontsmettingsprotocol van de leegstandperiode niet alleen de stallen zelf maar ook de nabije omgeving van de stallen en gebruikte materialen worden opgenomen.

Een belangrijke bevinding is ook dat er op één bedrijf meerdere *Campylobacter*-stammen (tegelijkertijd) aanwezig kunnen zijn en dat het aantonen van *Campylobacter* in de mestmonsters van opeenvolgende koppels in dezelfde stal dan wel in meerdere stallen tijdens één ronde, niet per definitie hoeft te betekenen dat het om dezelfde stam gaat. Dit blijkt uit zowel de MALDI Biotyper resultaten van bedrijven D en E, waar verschillende *Campylobacter* species (*Campylobacter jejuni* en *C. coli*) werden aangetroffen, als uit de WGS data de stammen van bedrijf A. Bij de laatste ging het weliswaar om eenzelfde *Campylobacter* species, maar om duidelijk verschillende genetische types. Tot slot kan hier nog een scenario aan worden toegevoegd, namelijk de aanwezigheid van meerdere *Campylobacter*-stammen in één stal vleeskuikens. In de huidige studie is hier geen nader onderzoek naar gedaan, maar in de literatuur is beschreven dat in één stal vleeskuikens meerdere genetisch verschillende *Campylobacter*-stammen kunnen worden teruggevonden, zowel gedurende de ronde als op één specifiek moment tijdens de ronde (Damjanova et al., 2011; Vidal et al., 2016).

De bevindingen van de huidige studie bevestigen hoe belangrijk het is om bij vervolgonderzoek naar transmissieroutes van *Campylobacter* rekening te houden met de hierboven beschreven genetische diversiteit aan *Campylobacter*-stammen binnen een koppel vleeskuikens en op een vleeskuikenbedrijf. De aanwezigheid van verschillende *Campylobacter*-stammen in een koppel betekent immers dat er waarschijnlijk ook meerdere introducties hebben plaatsgevonden. Het nader (geno)typeren van *Campylobacter* stammen kan dus veel extra inzicht geven bij onderzoek naar transmissie routes van *Campylobacter* op pluimveebedrijven

Dankwoord

Dit rapport beschrijft een onderzoek uitgevoerd in samenwerking met Van Eck Bedrijfshygiëne B.V. op Nederlandse vleeskuikenbedrijven. Zonder de inzet van Van Eck Bedrijfshygiëne B.V. was deze studie niet mogelijk geweest. In de opstartfase hebben zij een belangrijke bijdrage geleverd aan het vormgeven van de studieopzet en hebben zij de studie onder de aandacht gebracht bij de pluimveehouders in hun klantenbestand. In de uitvoerende fase waren zij verantwoordelijk voor een deel van de logistieke en coördinerende werkzaamheden, maar bovenal voor de uitvoering van de helft van de stalbemonsteringen. Van Eck heeft deze taken op zich genomen omdat het bedrijf het belangrijk vindt zich in te zetten voor verbeteringen in de pluimveesector en onderzoek dat hier mogelijk toe bijdraagt. Wij zijn alle betrokken werknemers van Van Eck Bedrijfshygiëne B.V. en in het bijzonder Peter van Laar, zeer dankbaar voor hun inzet. Hetzelfde geldt voor de grote groep pluimveehouders die bereid was mee te werken aan het onderzoek door allereerst mestmonsters te nemen en vervolgens hun bedrijf open te stellen voor uitgebreide stalbemonsteringen.

Literatuur

- Battersby, T., Walsh, D., Whyte, P., Bolton, D., 2016. The pattern of *Campylobacter* contamination on broiler farms; external and internal sources. *Journal of Applied Microbiology* 120, 1108-1118
- Battersby, T., Walsh, D., Whyte, P., Bolton, D., 2017. Evaluating and improving terminal hygiene practices on broiler farms to prevent *Campylobacter* cross-contamination between flocks. *Food Microbiology* 64, 1-6.
- Dame-Korevaar, M. A., Pacholewicz, E., van der Most, M., Schreuder, J., Koene, M. G. J., 2022. Onderzoek naar *Campylobacter* op Nederlandse vleeskuikenbedrijven en de bijbehorende risicofactoren. Wageningen University & Research.
- Damjanova, I., Jakab, M., Farkas, T., Mészáros, J., Galántai, Z., Turcsányi, I., Bistyák, A., Juhász, A., Pászti, J., Kiss, I., Kardos, G., 2011. From farm to fork follow-up of thermotolerant *Campylobacters* throughout the broiler production chain and in human cases in a Hungarian county during a ten-months period. *Int J Food Microbiol* 150, 95-102.
- EFSA, Koutsoumanis, K., Allende, A., Alvarez-Ordóñez, A., Bolton, D., Bover-Cid, S., Davies, R., De Cesare, A., Herman, L., Hilbert, F., Lindqvist, R., Nauta, M., Peixe, L., Ru, G., Simmons, M., Skandamis, P., Suffredini, E., Alter, T., Crotta, M., Ellis-Iversen, J., Hempen, M., Messens, W., Chemaly, M., 2020. Update and review of control options for *Campylobacter* in broilers at primary production. *EFSA Journal* 18, e06090.
- Vidal, A.B., Colles, F.M., Rodgers, J.D., McCarthy, N.D., Davies, R.H., Maiden, M.C.J., Clifton-Hadley, F.A., 2016. Genetic Diversity of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* Isolates from Conventional Broiler Flocks and the Impacts of Sampling Strategy and Laboratory Method. *Appl Environ Microbiol* 82, 2347- 2355.

Bijlage 1. Informatiebrief pluimveehouders

***Campylobacter* in de stal**

Campylobacter is de meest voorkomende bacteriële veroorzaker van voedselinfecties bij de mens.

Pluimvee is daarbij een zeer belangrijke bron van besmetting. In het belang van de volksgezondheid is het daarom gewenst om in de pluimveesector het aantal *Campylobacter* besmettingen te verminderen.

Een koppel vleeskuikens kan tijdens een ronde besmet worden met *Campylobacter* door insleep van de bacterie vanuit de omgeving. Of de overdracht van *Campylobacter* tussen twee opeenvolgende rondes in één stal ook een rol speelt bij de besmetting, is onzeker. Door na het wegladen van een

Campylobacter positief koppel de stal te bemonsteren zowel na reiniging als na ontsmetting, hopen wij meer duidelijkheid te krijgen over de overlevingskansen van *Campylobacter* tijdens de leegstand.

Dit onderzoek berust op een samenwerking tussen pluimveehouders, NEPLUVI, Wageningen University & Research en Van Eck Bedrijfshygiëne B.V.

Als pluimveehouder ontvangt u alle laboratoriumuitslagen van uw eigen bedrijf. Deze uitslagen worden volledig geanonimiseerd opgenomen in het onderzoek en niet voor andere doeleinden gebruikt.

Een initiatief voor de sector, door de sector.

Wie doet wat?

1. **De pluimveehouder** neemt mestmonsters bij het zittende koppel kuikens een week voor de kuikens naar de slacht gaan.
2. Bij een positieve uitslag van het mestonderzoek neemt **Van Eck** stalmonsters vlak voor de stal wordt ontsmet.
3. **Wageningen University & Research** bemonstert de betreffende stal na ontsmetting relatief kort voor de komst van het nieuwe koppel kuikens.
4. **De pluimveehouder** neemt ook bij dit koppel kuikens mestmonsters een week voor de kuikens naar de slacht gaan, ongeacht of de stalmonsters positief of negatief waren.

Onder een koppel vleeskuikens verstaan wij het totaal aantal kuikens aanwezig in één stal. Op een bedrijf met meerdere stallen, kunnen dus meerdere koppels vleeskuikens aanwezig zijn. Deze stallen, die kunnen verschillen in *Campylobacter*status, worden afzonderlijk opgenomen in het onderzoek. Om de vindkans van *Campylobacter* positieve koppels te vergroten, moedigen wij u aan in meerdere/alle stallen mestmonsters te nemen. Per bedrijf komen echter maximaal twee *Campylobacter* positieve stallen in aanmerking voor de stalbemonsteringen.

Bijlage 2. Aanmeldformulier vleeskuikenbedrijven

Gegevens pluimveehouder

Naam	
UBN	
Adres bedrijf	
Postcode + plaats	
Telefoon	
E-mail	

Bedrijfskenmerken

Totaal aantal stallen	
Stalnummers deelnemende stallen	
Houderijsysteem (regulier/concept)	
Naam concept indien van toepassing	

Planning

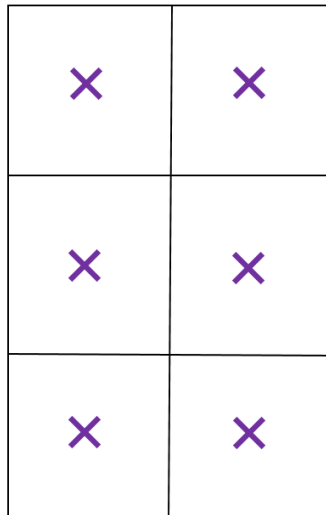
Weglaaddatum kuikens	
Plandatum ontsmetting	
Plandatum opzet nieuw koppel	

Opmerkingen

--

Bijlage 3. Protocol monstername mest (pluimveehouder)

1. Per te onderzoeken stal worden **6 hoopjes mest** genomen. Het is niet noodzakelijk om enkel blindedarmmest te verzamelen. Belangrijk is wel dat de mest vers is.
2. Om de pakkans te vergroten, worden de mestmonsters **op verschillende plaatsten in de stal** genomen. Als richtlijn kan worden aangehouden om zowel aan de linker- als rechterkant van de stal voor, midden en achter een mestmonsters te nemen, zie schematische weergave onderaan protocol.
3. De hoopjes mest van één stal kunnen samen in één monsterpotje worden gedaan.
4. De monsterpotjes moeten niet helemaal tot bovenaan toe worden gevuld in verband met het risico op gasvorming.
5. Op de zijkant van het monsterpotje dient **de naam van de pluimveehouder en het stalnummer** te worden genoteerd.
6. Tot het moment waarop de monsterpotjes worden opgehaald door een koerier, worden **de potjes bewaard in de koelkast** bij een temperatuur van 4-6 °C.
7. Het **Inzendformulier mestmonsters** wordt ingevuld en **in een apart zakje** bijgevoegd bij de mestmonsters op het moment dat de monsters aan de koerier worden afgegeven.
8. De mestmonsters worden door de koerier gekoeld naar het laboratorium getransporteerd. **Dit transport vindt plaats op de dag van of uiterlijk één dag na monstername.**



Bijlage 4. Protocol monsternames stal (Van Eck en WUR)

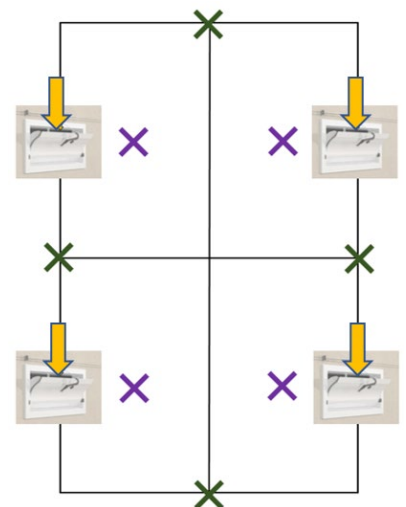
1. Per te onderzoeken stal worden 20 monsters genomen; **12 sponsmonsters en 8 swabs**.
2. Indien het een stal met een **overdekte uitloop/wintergarten** betreft, worden **4 extra sponsmonsters** genomen in de overdekte uitloop.
3. Sponsmonsters:



- De sponsjes zitten verpakt in een hersluitbaar zakje en zijn reeds bevochtigd. Bij ieder sponsje zit tevens een blauw zakje met wegwerphandschoenen. Gebruik voor ieder sponsje nieuwe handschoenen.
- **Nummer voorafgaand aan de stalbemonstering de monsterzakjes** met de nummers 1 t/m 12, gebruik watervaste stift.
- Nadat de handschoenen zijn aangetrokken, kan het sponsje uit de verpakking worden gehaald en kan een oppervlak met dit sponsje worden afgenomen. **Beide kanten van het sponsje** kunnen worden gebruikt.
- Voor alle sponsmonsters wordt een te bemonsteren oppervlakte aangehouden van **het formaat van een A4-tje (21x30 cm)**. Het oppervlak wordt bemonsterd met beide kanten van het sponsje.
- Plaats na het bemonsteren het sponsje terug in het zakje en sluit dit af door het zakje op te rollen langs het blauwe ijzerdraadje en vervolgens de uitstekende uiteinden van dit ijzerdraadje om te buigen, zie bovenstaande foto's.

4. Er worden sponsmonsters genomen van:

- De vloer (**sponsmonster 1 t/m 4**)
1x linksvoor, 1x linksachter, 1x rechtsvoor, 1x rechtsachter
- Het onderste deel van de muur 20-50 cm boven de vloer (**sponsmonster 5 t/m 8**)
1x voor, 1x zijkant links, 1x achter, 1x zijkant rechts
- De buitenzijde van de inlaatkleppen (**sponsmonster 9 t/m 12**)
2 x inlaatkleppen links, 2x inlaatkleppen rechts
- De overdekte uitloop indien aanwezig (**sponsmonster 13 t/m 16**)
2x uitloop links, 2x uitloop rechts of 4x dezelfde zijde bij een eenzijdige uitloop



5. Swabs:

- In de verpakking zit een swab en een met dopje afgesloten buisje. De verpakking kunt u gemakkelijk openen door bij het driehoekje het plastic en het papier van elkaar af te trekken. Nu kunt u **de swab aan het handvat vastpakken en uit de verpakking nemen**. Nadat de plek is bemonsterd met de swab kan het buisje worden geopend en kan de swab **in het medium** (zwarte gel) worden gestoken. Het losse dopje van het buisje is niet meer nodig en kan worden weggegooid.
- Ook hier is het belangrijk op het buisje aan te geven welke plek (nummer) is bemonsterd.



6. Er worden swabs genomen van:

- Naden en/of kieren in de vloer **(swab 1 t/m 4)**
 - Indien aanwezig worden 4 naden en/of kieren bemonsterd. Deze kunnen zich bevinden **in de vloer of op de overgang van vloer naar muur**. Zoek verschillende naden en/of kieren verspreid door de stal. Steek de swab rustig zo diep mogelijk in de betreffende naad of kier, maak een draaiende beweging en beweeg waar mogelijk een paar centimeter heen en weer.
- De binnenkant van de waterleiding **(swab 5 t/m 8)**
 - De binnenzijde van **4 verschillende waterleidingen** wordt bemonsterd door met een swab langs de wanden van de waterleiding te wrijven om een eventueel aanwezige biofilm aan de swab te laten hechten.

7. De afgesloten monsters met opschrift worden samen in een zakje gedaan.

8. Het **Inzendformulier stalmonsters** wordt ingevuld en **in een apart zakje** bijgevoegd bij de stalmonsters.

9. De stalmonsters worden in de koelkast bewaard bij 4-6 °C en gekoeld naar het laboratorium getransporteerd.

Bijlage 5. Inzendformulier stalmonsters na reiniging

Gegevens pluimveehouder

Naam	
UBN	

Informatie bij stalmonsters

Stalnummer	
Oppervlakte stal in m ²	
Inhoud stal in m ³	
Datum stalbemonstering	
Tijdstip stalbemonstering	

Plaatsen van monstername (volgens protocol)

Sponsmonsters		Swabs	
1	Vloer / anders:	1	Kier / anders:
2	Vloer / anders:	2	Kier / anders:
3	Vloer / anders:	3	Kier / anders:
4	Vloer / anders:	4	Kier / anders:
5	Muur / anders:	5	Waterlijn / anders:
6	Muur / anders:	6	Waterlijn / anders:
7	Muur / anders:	7	Waterlijn / anders:
8	Muur / anders	8	Waterlijn / anders:
9	Inlaat / anders:		
10	Inlaat / anders:		
11	Inlaat / anders:		
12	Inlaat / anders:		
13	Uitloop / anders:		
14	Uitloop / anders:		
15	Uitloop / anders:		
16	Uitloop / anders:		

Aanvullende informatie bemonstering na reiniging

Uitvoerdatum reiniging	
Reiniging uitgevoerd door	
Aanvang reiniging	
Einde reiniging	
Gebruikt(e) reinigingsmiddel(en), inclusief hoeveelheid	1.
	2.
	3.
Gebruikte dosering(en) <u>ofwel</u> gebruikte hoeveelheid water	1.
	2.
	3.
Inwerktijd reinigingsmiddel(en)	1.
	2.
	3.

Opmerkingen

--

Bijlage 6. Inzendformulier stalmonsters na ontsmetting

Gegevens pluimveehouder

Naam	
UBN	

Informatie bij stalmonsters

Stalnummer	
Oppervlakte stal in m ²	
Inhoud stal in m ³	
Datum stalbemonstering	
Tijdstip stalbemonstering	
Opzetdatum nieuwe kuikens	

Plaatsen van monsternamen (volgens protocol)

Sponsmonsters		Swabs	
1	Vloer / anders:	1	Kier / anders:
2	Vloer / anders:	2	Kier / anders:
3	Vloer / anders:	3	Kier / anders:
4	Vloer / anders:	4	Kier / anders:
5	Muur / anders:	5	Waterlijn / anders:
6	Muur / anders:	6	Waterlijn / anders:
7	Muur / anders:	7	Waterlijn / anders:
8	Muur / anders:	8	Waterlijn / anders:
9	Inlaat / anders:		
10	Inlaat / anders:		
11	Inlaat / anders:		
12	Inlaat / anders:		
13	Uitloop / anders:		
14	Uitloop / anders:		
15	Uitloop / anders:		
16	Uitloop / anders:		

Aanvullende informatie bemonstering na ontsmetting

Uitvoerdatum ontsmetting	
Aanvang ontsmetting	
Einde ontsmetting	
Temperatuur buiten	
Temperatuur binnen	
Luchtvochtigheid binnen	
Wijze uitvoering (nat versus droog)	
Gebruikt(e) ontsmettingsmiddel(en), inclusief hoeveelheid	1.
	2.
	3.
Gebruikte dosering(en) ofwel gebruikte hoeveelheid water	1.
	2.
	3.
Inwerktijd ontsmettingsmiddel(en)	1.
	2.
	3.

Opmerkingen

--

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

Wageningen Bioveterinary Research
Report 2346850

De missie van Wageningen University & Research is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen University & Research bundelen Wageningen University en gespecialiseerde onderzoeksinstituten van Stichting Wageningen Research hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 30 vestigingen, 7.200 medewerkers (6.400 fte) en 13.200 studenten en ruim 150.000 Leven Lang Leren-deelnemers behoort Wageningen University & Research wereldwijd tot de aansprekende kennisinstellingen binnen haar domein. De integrale benadering van de vraagstukken en de samenwerking tussen verschillende disciplines vormen het hart van de unieke Wageningen aanpak.