

*Eindrapport van onderzoek naar afdoding
ESBL in pluimveemest in composterings- en
vergistingsinstallaties in Nederland*

Rapportnummer: 20120501

*Opdrachtgever: Ministerie van Economische Zaken,
Landbouw en Innovatie*



Auteurs: Elsinga Beleidsplanning en Innovatie bv: J.W. Duindam, G. J. Elsinga, P.B.
Bijlsma en W. Elsinga
Centraal Veterinair Instituut: C.M. Dierikx en K.T. Veldman
Datum: 1 mei 2012

Inhoudsopgave

SAMENVATTING	3
1. INLEIDING	5
2. VERGISTING EN COMPOSTERING VAN PLUIMVEEMESTVERWERKING IN NEDERLAND	7
2.1. AANPAK	7
2.2. RESULTATEN.....	7
2.2.1. <i>Aandeel composteren in pluimveemestverwerking</i>	9
2.2.2. <i>Aandeel vergisten in pluimveemestverwerking</i>	9
3. AANPAK PRAKTIJKONDERZOEK	11
3.1. BESCHRIJVING VAN GESELECTEERDE VERWERKINGSMETHODEN	11
3.2. AANPAK	11
3.2.1. <i>Reductieonderzoek van ESBL-producerende E. coli in proces</i>	11
3.2.2. <i>Input-output onderzoek</i>	12
3.3. MONSTERNAMEPROTOCOL.....	13
3.4. MAATREGELEN HYGIËNE	13
3.5. REGISTRATIE TEMPERATUURSGEGEVENS.....	14
3.6. EIGENSCHAPPEN INGEBRACHTE REINCULTUUR	14
3.7. MICROBIOLOGISCHE ANALYSE	14
4. RESULTATEN	16
4.1. REDUCTIEONDERZOEK	16
4.2. INPUT-OUTPUT ONDERZOEK	18
4.3. IDENTIFICATIE EN BEVESTIGING RESISTENTE <i>E. COLI</i> ISOLATEN	18
5. CONCLUSIE EN AANBEVELINGEN	20
6. REFERENTIES	22
BIJLAGE 1: RESULTATEN CVI: ESBL BEVESTIGINGEN UIT ISOLATEN KBBL	23
A. TUNNELCOMPOSTERING	23
B. TROMMELCOMPOSTERING	24
C. CHAMPIGNONSUBSTRAAT PRODUCENT	25
D. CO-VERGISTINGSINSTALLATIE.....	26
BIJLAGE 2: RESULTATEN CVI: IDENTIFICATIE ISOLATEN MET MIC'S	27
BIJLAGE 3: RESULTATEN MICOROBIOLOGISCHE ANALYSES KBBL	28
A. TUNNELCOMPOSTERING	28
B. TROMMELCOMPOSTERING	29
C. CHAMPIGNONSUBSTRAATPRODUCENT	30
D. CO-VERGISTINGSINSTALLATIE.....	31
BIJLAGE 4: TEMPERATUURGRAFIEKEN	32
A. TUNNELCOMPOSTERING	32
B. TROMMELCOMPOSTERING	33
C. CHAMPIGNONSUBSTRAATPRODUCENT	34
D. CO-VERGISTINGSINSTALLATIE.....	35

Samenvatting

In Nederland komt jaarlijks bijna 1,3 - 1,5 Mln ton pluimveemest vrij. Hiervan is één derde afkomstig van vleeskuikenmesterijen waarvan bekend is dat deze mest in hoge mate besmet is met antibioticaresistente, ESBL-producerende bacteriën. Van de pluimveemest productie wordt 50-60% in Nederland verbrand of verwerkt tot mestproducten. Naar schatting wordt 75.000 ton onverwerkt toegepast in de landbouw en representeert daarmee een potentiële bedreiging van de volksgezondheid. Ook wordt naar schatting 435.000 ton onverwerkt geëxporteerd naar voornamelijk Duitsland. Binnen de pluimveemestverwerking is enige vorm van composteren een veel toegepaste methode (naar schatting 40%). Hierbij wordt middels gecontroleerde broei de mest (i) gedroogd om daarna aansluitend te pelleteren of (ii) gehygiëniseerd en microbiologisch afgebroken om te dienen als substraat in de champignonteelt. Pluimveemest wordt in Nederland op dit moment slechts beperkt (ca 2%) vergist.

In opdracht van het ministerie van Economische Zaken, Landbouw en Innovatie heeft Elsinga Beleidsplanning en Innovatie bv in samenwerking met het Centraal Veterinair Instituut begin 2012 een onderzoek uitgevoerd naar de afdoding van ESBL-producerende *E. coli* op vier pluimveemestverwerkende bedrijven in Nederland. Op basis van het experimentele onderzoek worden de volgende conclusies geformuleerd.

- Pluimveemest ondergaat in het proces bij alle in dit onderzoek opgenomen erkende verwerkingslocaties (voor productie van verwerkte mest) een tijd-temperatuur behandeling welke voldoende effectief is om zowel ESBL-producerende *E. coli* als reguliere *E. coli* te elimineren tot beneden de detectiegrens. Deze tijd-temperatuurcombinaties zoals gemeten gedurende de reguliere procesvoering zijn:

Verwerkingsmethode	Aandeel pluimveemest in input	Temp. in thermofiele fase	Verblijftijd thermofiele fase	Aangetoonde reductie ESBL (¹⁰ logeenheden)
tunnelcompostering	100%	61 °C	12 uur	5,5
trommelcompostering	>40%	65 °C	42 uur	5,2
champignonsubstraat producent	12%	67 °C	93 uur	5,5
co-vergistingsinstallatie	5%	54 °C	1,5 uur	5,8

- In drie van de vier bedrijven werd ESBL-producerende *E. coli* aangetroffen in het (niet aangeënte verse) inputmateriaal, terwijl in geen van de bedrijven dit werd aangetroffen in het eindproduct.
- Bij alle vier bedrijven werd *E. coli* in hoge concentratie aangetroffen in het (niet aangeënte) verse inputmateriaal, terwijl in geen van de bedrijven deze bacterie werd aangetroffen in het eindproduct. De procesvoering op de onderzochte bedrijven is dus dermate hygiënisch dat kruis- en/of herbesmetting niet werd aangetoond.
- De verschillende tijd-temperatuur behandelingen binnen dit onderzoek waren locatiespecifiek en niet generiek toe te passen op andere bedrijven/processen. Echter kan op basis van dit onderzoek de conclusie gerechtvaardigd worden dat installaties met een erkenning voor produceren van verwerkte mest, met hun procescondities sterk bijdragen aan de vermindering van verspreiding van ESBL-*E. coli*. Een vervolgonderzoek met een grotere sample-size zal meer zekerheid geven over eliminatie van ESBL op verschillende processtypen en procescondities.

De Europese Verordening dierlijke bijproducten schrijft voor welke behandeling mest moet ondergaan om als "verwerkte mest" in de handel te mogen worden gebracht. Ook moeten bedrijven die mest omzetten in biogas of compost of op niet-biologische wijze verwerken een erkenning op grond van genoemde verordening hebben. Om een erkenning te krijgen moeten bedrijven zich, naast de eisen voor het omzettings- of verwerkingsproces, houden aan onder andere voorschriften voor hygiëne en bedrijfsvoering. De NVWA toetst of bedrijven aan deze voorschriften voldoen en verleent namens de minister van EL&I de erkenningen. Ook biogas- en composteerinstallaties die niet aan de eisen voor de omzetting van mest voldoen kunnen een erkenning krijgen. Hun digestaat of compost wordt echter als niet-verwerkt beschouwd, en moet dus ook als zodanig in de handel worden gebracht.

1. Inleiding

Door overmatig gebruik van antibiotica in de Nederlandse dierhouderij heeft zich binnen deze sector in een aantal micro-organismen antibiotica resistentie kunnen ontwikkelen. Vooral in de pluimveesector is op grote schaal resistentie geconstateerd. Uit onderzoeksresultaten van het CVI blijkt dat nagenoeg 100% van de mest van vleeskuikens met ESBL-producerende bacteriën is besmet (Dierikx et al., 2010)¹. Verder blijkt het aantal bacteriën met antibiotica-resistentie-genen in Nederlandse bodems de laatste decennia sterk toe te nemen, door besmetting via bemesting en irrigatie met besmet oppervlakte-water (Knapp et al. 2010)². Ook rauwe groenten die in direct contact met besmette bodems groeien zijn in toenemende mate besmet met antibiotica-resistente bacteriën (Ruimy et al. 2010)³.

ESBL (Extended Spectrum Bèta-Lactamase) productie en AmpC-productie (vergelijkbaar met ESBL) maakt bacteriën ongevoelig voor een groot aantal antibiotica, die in de medische wereld worden toegepast (beta-lactam antibiotica). Dit is een zeer urgent probleem voor de volksgezondheid, temeer nu blijkt dat Nederlandse ziekenhuis-patienten dezelfde bacterie-stammen met resistentie-genen dragen als die aanwezig zijn in vleeskuikens en op rauw kippenvlees (Leverstein-van Hall et al. 2011)⁴. Dit type resistentie bevindt zich op een mobiel stukje DNA (plasmide) binnen de bacterie. Plasmiden kunnen makkelijk horizontaal uitgewisseld worden tussen bacteriën onderling of van bacteriesoort naar bacteriesoort. Hierdoor kan het gen verantwoordelijk voor de resistentie zich in korte tijd verspreiden over verschillende soorten bacteriën. Deze overdraagbaarheid betekent dat er haast onbegrensde mogelijkheden van verspreiding van ESBLs bestaan, en dat naast de voedselketen ook het milieu een rol kan spelen in de verspreiding naar de mens.

ESBL producerende bacteriën bevinden zich met name in het maag-darm kanaal (en dus ook in de mest). De oorzaak van resistentieontwikkeling is nog niet precies bekend, maar duidelijk is dat de aanwezigheid van antibiotica hierbij een rol speelt. Eén onderdeel van het voorkómen van verdere verspreiding van antibiotica-resistente micro-organismen is het terugdringen van antibioticagebruik binnen de intensieve dierhouderij omdat veelvuldig gebruik van antibiotica kan leiden tot het ontstaan en selecteren van resistente stammen. Echter dit kost tijd en antibioticagebruik zal op korte termijn waarschijnlijk niet volledig afgebouwd kunnen worden. Naast preventie van antibioticagebruik biedt het aanpakken van ESBL bacteriën in de mest door effectieve mestverwerking eveneens een deel van de oplossing: darminhoud en vervolgens mest kan optreden als reservoir van ESBL-producerende bacteriën en kan zo een rol spelen bij de verspreiding ervan. De *Escherichia coli* bacterie bevindt zich in grote dichtheden in mest en is de belangrijke vertegenwoordiger van ESBL-producerende bacteriën (Dierikx et al., 2010)¹. Van *E. coli* is bekend dat deze in rundveemest zeker meer dan 80 dagen overleeft. Ook wanneer deze mest in de grond wordt gewerkt neemt *E. coli* slechts langzaam af en overleeft afhankelijk van de grondsoort zeker 12 (zandgrond) tot 58 dagen (kleigrond) (Franz, 2007)⁵. Omdat mest(producten) worden toegepast in de landbouw vormt een 'end-of-pipe' benadering, waarbij ESBL-producerende bacteriën in mest worden geïnactiveerd, een belangrijk wapen tegen het voortdurende gevaar van besmetting in de voedselkringloop.

Met het oog op bovenstaande heeft het ministerie van Economische zaken, Landbouw en Milieu (EL&I) Elsinga Beleidsplanning en Innovatie bv samen met het Centraal Veterinair Instituut (CVI; onderdeel van Wageningen University and Research Center) op 2 december 2011 opdracht gegeven tot het uitvoeren van een onderzoek naar de reductiecapaciteit van ESBL bacteriën in composterings- en vergistingsinstallaties voor pluimveemest in Nederland. Afdoding vindt hierbij voornamelijk plaats door de tijd-temperatuur behandeling waar bacteriën aan blootgesteld worden. Weliswaar zijn in thermofiel gecomposteerde kippenmest DNA-fragmenten met antibiotica-resistentie-genen (vooral afkomstig van afgestorven antibiotica-resistente bacterien) langer

Afdoding ESBL in pluimveemest in composterings- en vergistingsinstallaties in Nederland

aantoonbaar dan de levende antibiotica-resistente bacteriën zelf (Guan et al. 2007)⁶, maar het risico op overdracht van dit genetisch materiaal door "random" opname ervan vanuit de mest in levende bacterien (passieve horizontale transformatie) is zeer gering in vergelijking met actieve horizontale overdracht van antibiotica-resistentie-genen tussen levende bacteriën (conjugatie), of actieve horizontale overdracht via bacteriofagen (bacterie-virussen) van levende antibiotica-resistente bacteriën naar andere bacteriën via transductie (Mevius 2008)⁷.

De door ons uitgevoerde studie bestaat uit de volgende onderdelen:

- In kaart brengen van de betekenis van composteren en vergisten binnen de verwerking van pluimveemest in Nederland
- Het ontwerpen van een onderzoeksmethode ter bepaling van de reductiecapaciteit van verwerkingsprocessen
- Het uitvoeren van een praktijkonderzoek op een geselecteerd aantal bedrijven
- Uitwerken en analyseren van de resultaten
- Interpretatie van de resultaten, formuleren van conclusies en aanbevelingen

De opbouw van dit rapport volgt de volgorde van de onderdelen zoals hierboven beschreven.

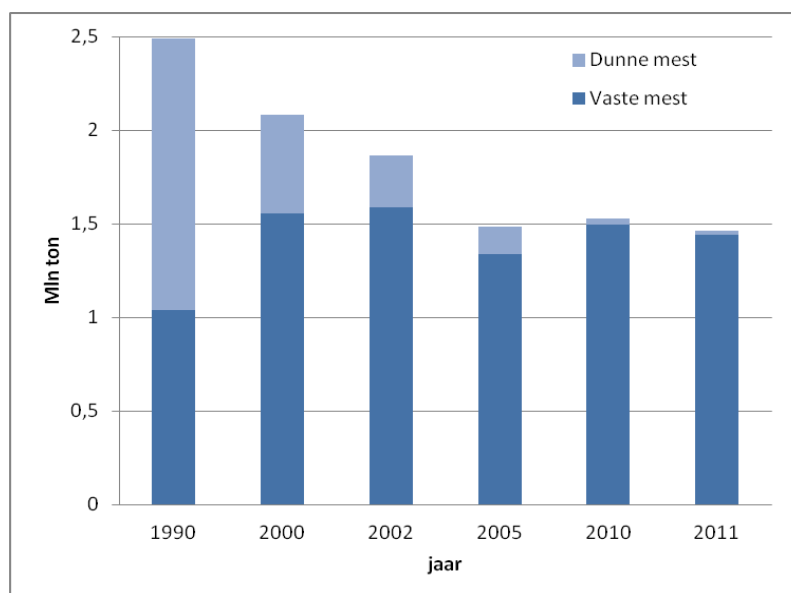
2. Vergisting en compostering van pluimveemestverwerking in Nederland

2.1. Aanpak

Door middel van een literatuurstudie is een globale inventarisatie gemaakt van de betekenis van composteren en vergisten voor de verwerkingsector voor pluimveemest in Nederland. Hierbij wordt eveneens gekeken naar verschillende uitvoeringsvormen van deze technieken. Resultaten zijn aanvullend gechecked door verificatie bij verschillende partijen actief in de pluimveemestverwerkingssector.

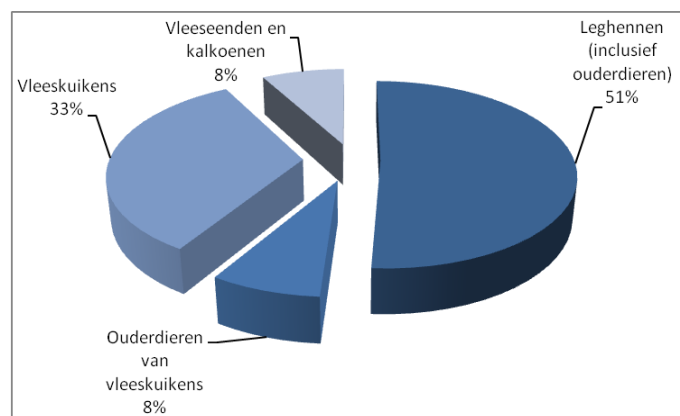
2.2. Resultaten

Figuur 1 geeft de historische trend weer van pluimveemestproductie in Nederland sinds 1990. Te zien is dat het volume aan mest dat jaarlijks in de pluimveesector vrijkomt in de periode van 1990 tot 2005 van 2,5 mln ton naar zo'n 1,5 mln ton is afgenomen. Hierna stabiliseerde de totale productie. Door verandering van opfokmethoden daalde het aandeel dunne mest (aangeleverd zonder strooisel) in bovengenoemde periode sterk van 1,5 mln ton (60% van totale productie) in 1990 tot nagenoeg nihil in 2011.



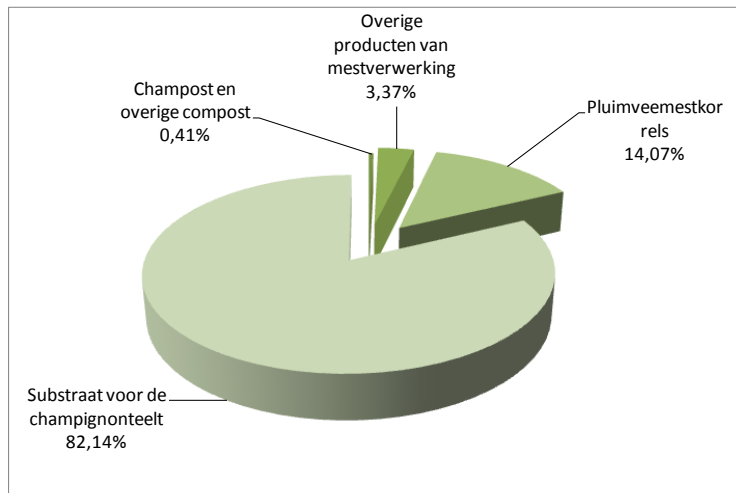
Figuur 1: totale jaarlijkse productie van pluimveemest in Nederland (bron: CBS statline, 2012)

De vaste mest is thans voornamelijk (51%) afkomstig van leghennen en vleeskuikens (33%) (zie figuur 2). Van de 1,53 mln ton pluimveemest die in 2010 werd geproduceerd werd in totaal 0,76 mln ton aangevoerd naar verwerkingsbedrijven (gegevens CBS alleen beschikbaar over 2010). In totaal werd dus 50% van de pluimveemest verwerkt dus niet rechtstreeks als meststof op het land aangewend. Figuur 3 laat de verhouding van



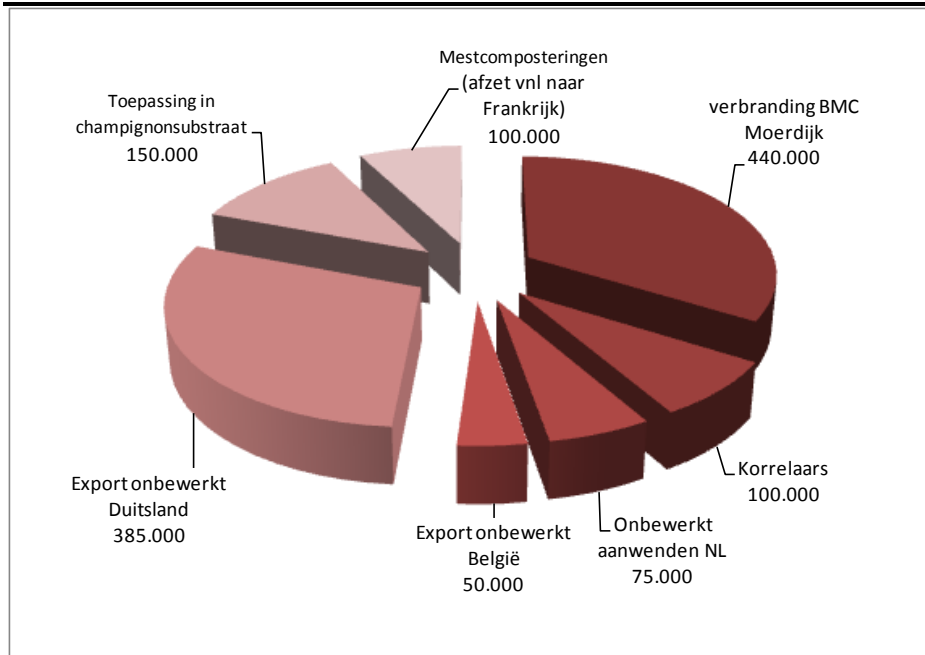
Figuur 2: samenstelling van vaste pluimveemest in 2011

Afdeling ESBL in pluimveemest in composterings- en vergistingsinstallaties in Nederland
afgevoerde mestproducten op verwerkingsbedrijven zien.



Figuur 3: Afvoer van pluimveemestverwerkende bedrijven in 2010 op basis van getallen CBS-statline. In totaal werd in 2010 0,95 mln ton aan mestproducten geproduceerd.

Hierbij dient opgemerkt te worden dat dit een vertekend beeld geeft ten opzichte van aangevoerde tonnen mest, omdat na verwerking het product veelal droger is of gedeeltelijk omgezet. Aannemelijk is dus dat het aandeel aangevoerde pluimveemest dat verwerkt wordt in korrels (hoog gehalte drogestof) aanzienlijk hoger is dan 14,07%. Een deel van deze mest is vóór de korrelproductie gecomposteerd. Evenzo is het aandeel aangevoerde mest dat na verwerking wordt afgezet als compost en substraat van champignonteelt (veel stro toegevoegd en laag drogestof gehalte) aanmerkelijk lager dan 82%. Ook is pluimveemestverbranding niet in bovenstaande lijst opgenomen. Waarschijnlijk omdat de as die bij verbranding vrijkomt niet als mestproduct wordt afgezet, maar dient als fosfaat- en kaliumrijke grondstof in de kunstmestindustrie. De aanvoergegevens voor mest per verwerkingsmethode zijn niet beschikbaar op CBS-statline. Voor een completer beeld van verwerkings- en toepassingsroutes van pluimveemest in Nederland is daarom contact opgenomen met ZLTO (dhr J. van Gastel). Ook bij ZLTO bleek geen volledig overzicht te bestaan van de volumestromen voor verschillende verwerkingsroutes. Daarom is contact opgenomen met dhr A. van Schijndel van Orgafert bv. Orgafert is een grote partij in het transport en afzet in binnen- en buitenland van stapelbare mest (hoofdzakelijk droge pluimveemest). Orgafert verzorgt onder andere de aanvoer naar pluimveemestverbrander BMC te Moerdijk (<http://www.cooperatiedep.nl/orgafert>). Het beeld dat door Orgafert wordt geschetst is weergegeven in figuur 4. Hierbij dient te worden opgemerkt dat de volumestromen grosso modo zijn weergegeven, maar voldoende nauwkeurig om een redelijk overzicht te geven van handels- en verwerkingsroutes voor pluimveemest in Nederland.



Figuur 4: Grosso modo cijfers voor handels- en verwerkingsroutes van pluimveemest in Nederland (bron: pers. comm. A. van Schijndel, mestdistributeur Orgafert bv.).

Deze cijfers bevestigen CBS cijfers dat een groot deel (800.000 ton; 61%) van de pluimveemest in Nederland wordt verwerkt waarna het al dan niet wordt geëxporteerd. Het grootste deel van de verwerkingscapaciteit in Nederland wordt gerepresenteerd door de verbrander BMC (55%). Een deel wordt onverwerkt geëxporteerd naar voornamelijk Duitsland. Slechts een klein deel (ca 6%) wordt onverwerkt in Nederland op landbouwgronden als meststof toegepast.

2.2.1. Aandeel composteren in pluimveemestverwerking

De productie van substraat voor de champignonteelt bestaat voor het grootste gedeelte uit een composteringsproces waarbij door beluchting van het substraat (stro, paarden- en pluimveemest en gips) gecontroleerde broei optreedt. Door deze warmteproductie wordt het substraat gehygiëniseerd en microbiologisch afgebroken zodat nutriënten beschikbaar zijn voor de champignonschimmel. Bij de productie van pluimveemestkorrels (korrelen) wordt de mest eerst gedroogd tot een drogestofgehalte van minimaal 80% voordat het kan worden gepelleteerd. Bij dit drogen wordt zowel gebruik gemaakt van thermische drooginstallaties als van biologische droging (composteren) in tunnels. Biologische droging is in feite een composteringsproces welke veelvuldig in combinatie met thermische droging wordt toegepast. Het is duidelijk dat het composteringsproces sterk vertegenwoordigd is in de pluimveemestverwerking. Van de ca 800.000 ton pluimveemest die in Nederland wordt verwerkt wordt bij minimaal 40% van de verwerkte mest compostering toegepast.

2.2.2. Aandeel vergisten in pluimveemestverwerking

Uit de CBS statistieken blijkt dat vergisten een relatief klein aandeel heeft in de pluimveemestverwerking. Dit wordt bevestigd in overige literatuur. Pluimveemest heeft een ongunstige koolstof-stikstofverhouding voor vergisten. Uit een evaluatie van de mestvergisters in Nederland door OWS in 2011 bleek dat 2,1% van de input van co-vergisters uit pluimveemest bestaat (gemiddeld bestaat 52% van de input uit mest, waarvan 4% bestaat uit pluimveemest). Hoewel er initiatieven lopen om middels voorbehandeling het aandeel kippenmest in het vergistingsproces te verhogen is de vergistingsroute vooralsnog beperkt. Uit resultaten van het bovengenoemde OWS rapport blijkt dat het aandeel pluimveemest ca 36.000 ton bedraagt (ca 2% van de totale

Afdoding ESBL in pluimveemest in composterings- en vergistingsinstallaties in Nederland

hoeveelheid verwerkte pluimveemest). Volgens Orgafert bv is het zeer aannemelijk dat een deel van de naar Duitsland geëxporteerde pluimveemest daar als input voor co-vergistingsinstallaties dient.

3. Aanpak praktijkonderzoek

3.1. Beschrijving van geselecteerde verwerkingsmethoden

Belangrijk uitgangspunt van dit onderzoek was om een zo representatief mogelijk beeld te kunnen schetsen van de ESBL-reductie binnen de verschillende composterings- en vergistingstechnieken die in Nederland worden toegepast. Daarbij is er rekening mee gehouden dat deze processen in principe conform Verordening EG 1069/2009 in aanmerking zouden kunnen komen voor erkenning. De volgende verwerkingsprocessen zijn geselecteerd:

1. Een mest (tunnel-)compostering

Dit tunnelcomposteringssysteem droogt 100% pluimveemest door een combinatie van biologische en thermische droging. Hierna wordt het product gepelleteerd en afgezet als meststof in de vorm van pluimveemestkorrels

2. Een mest (trommel-)compostering

Dit trommelcomposteringssysteem droogt verschillende mestsoorten waaronder minimaal 40% pluimveemest batchgewijs in een draaiende trommel. Middels selectieve toediening van minerale additieven wordt een hoogwaardige meststof voor gespecialiseerde teelten geproduceerd. Het product wordt ook hier na het composteren gepelleteerd.

3. Een productiesysteem voor substraat in de champignonteelt

Dit tunnelcomposteringssysteem verwerkt in verschillende processtappen een mengsel van stro (15%), paardenmest (70%), pluimveemest (12%) en gips (3%) tot een kant-en-klaar, reeds met mycelium doorgroeid groeisubstraat voor champignons.

4. Een vergistingssysteem

Dit co-vergistingssysteem werd bedreven in het thermofiele temperatuursbereik (50-55°C) waarvan bekend is dat dit effectief ziekteverwekkende bacteriën reduceert. Er wordt op jaarbasis ca 5% pluimveemest (eendenstromest) gedoseerd. Overige inputstromen zijn rundveemest (48%), uitgepakte levensmiddelen (14%), plantaardige co-producten 26% en glycerine (7%).

3.2. Aanpak

Doel van het hieronder beschreven onderzoek is tweeledig. Ten eerste wordt bepaald wat de ESBL-reducerende capaciteit van het vergistings- of composteerproces is. Dit is gedaan middels een gestandaardiseerde potten-methode (NTA8777) waarbij met ESBL-producerende *E. coli* besmet materiaal in het proces gebracht wordt. Ten tweede wordt middels een input-output onderzoek bepaald in welke mate inputmateriaal is besmet met ESBL, of er mogelijk nabesmetting optreedt en in hoeverre het eindproduct daadwerkelijk vrij is van ESBL-producerende bacteriën. Indien van toepassing worden tijdens de proeven condities gehanteerd die zijn vastgesteld als CCP tijdens reductieonderzoek in het kader van Verordening EG 1069/2009.

3.2.1. Reductieonderzoek van ESBL-producerende *E. coli* in proces

De aanpak van het reductieonderzoek is gebaseerd op de standaard methode voor het uitvoeren van reductieonderzoek van *Enterococci* in het kader van EG 1069/2009. Deze methode is vastgelegd in een Nederlands Technische Afspraak (NTA8777). Hierbij wordt gebruik gemaakt van het inbrengen van potten met aangeënt materiaal in het composterings- of vergistingssysteem.

Het principe van dit experiment is het bepalen van de afdoding van ESBL-producerende *E. coli* welke van nature in het materiaal aanwezig zijn, aangevuld door aanenting met ESBL-producerende *E. coli*. Deze kunstmatige verhoging van de concentratie ESBL-producerende *E. coli* is nodig omdat het onzeker is dat op moment van proefneming er ESBL producerende *E. coli* in voldoende concentratie in het uitgangsmateriaal aanwezig

Afdoding ESBL in pluimveemest in composterings- en vergistingsinstallaties in Nederland

zijn voor het aantonen van een significante reductiecapaciteit. Omdat aanenting van al het materiaal van een productiebatch praktisch onuitvoerbaar is, wordt er gewerkt met een kleiner volume aangeënt materiaal in afgesloten potten van 250 ml. Een deel van het aangeënte materiaal wordt (conform NTA 8777) in potten (5 stuks) gekoeld bewaard als referentiemateriaal en een deel wordt in potten (5 stuks) aan de heersende procescondities onderworpen. In het geval van aerobe processen (i.e. composteringssystemen) wordt door middel van een microbiologisch filter (porie-diameter 0,2 µm) gasuitwisseling tussen de inhoud van de pot en het materiaal in het productieproces gewaarborgd (zie figuur 4) zonder dat er microbiologische (her-) besmetting op kan treden. Waar nodig worden potten beschermd doormiddel van speciale houders in het proces gebracht en ondergaan ze zo de heersende procescondities. Na de blootstellingsduur in het proces worden potten (en houders) verwijderd uit het materiaal en onmiddellijk in de koelkast geplaatst. Deze potten worden dezelfde dag in de koelkast op 5 ± 3 °C naar het laboratorium getransporteerd (zie figuur 7). Alle monsters zullen binnen 30 uur na monsternamen ingezet worden op het laboratorium. De afdoding van ESBL-producerende *E. coli* wordt bepaald door vergelijking van de concentratie in het referentiemateriaal met de concentratie in de potten die aan de procescondities zijn blootgesteld, analoog aan de NTA-methode. Aanvullend zijn als 'negatieve controle'

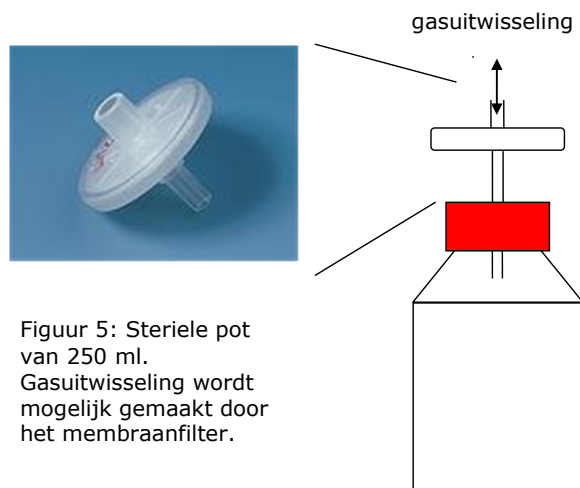
5 aangeënte potten bij omgevingstemperatuur (i.e. in de opslaghal) bewaard gedurende dezelfde periode dat 5 monsters aan de procescondities werden blootgesteld. Dit is gedaan als check op de verandering in concentratie van ESBL-producerende bacteriën in het aangeënte inputmateriaal buiten het verwerkingsproces.

Bij vergistingsprocessen is het uitgangspunt bij de NTA8777 procedure iets verschillend. In plaats van één meting, wordt er een serie metingen uitgevoerd, waarbij 10 aangeënte potten in een reeks van verschillende verblijftijden aan het proces wordt blootgesteld. Dit ten einde de D-waarde te bepalen. Dit is de tijd benodigd voor het reduceren van de concentratie met 1 logeenheid. Hiermee kan de minimale verblijftijd berekend worden voor het realiseren van een bepaalde reductie. Bij procesvalidatie van mestcompostering of mestvergisting schrijft de verordening dierlijke bijproducten (EG) no 1069/2009 respectievelijk (EG) no 142.2011 een minimale reductie van 5 logeenheden voor waarbij *Enterococcus faecalis* of *Salmonella Senftenberg* (775W, H_2S -negatief) als testorganismen worden genoemd.

3.2.2. Input-output onderzoek

Op de verwerkingslocatie is eveneens het verse inputmateriaal uit de reguliere verwerking bemonsterd en vervolgens tijdens de gang door het proces gevolgd. Hierbij wordt na bemonstering van inputmateriaal ditzelfde materiaal na het doorlopen van het verwerkingsproces (als eindproduct) opnieuw bemonsterd. Zowel de input- als de outputmonsters worden onderzocht op ESBL-producerende bacteriën. Daarmee wordt een indruk verkregen van de mate van besmetting van het binnenkomende materiaal en wordt een controle verkregen op de mate van decontaminatie tijdens het proces en eventuele nabesmetting.

Het totale bemonsteringsschema per locatie is samengevat in tabel 1.



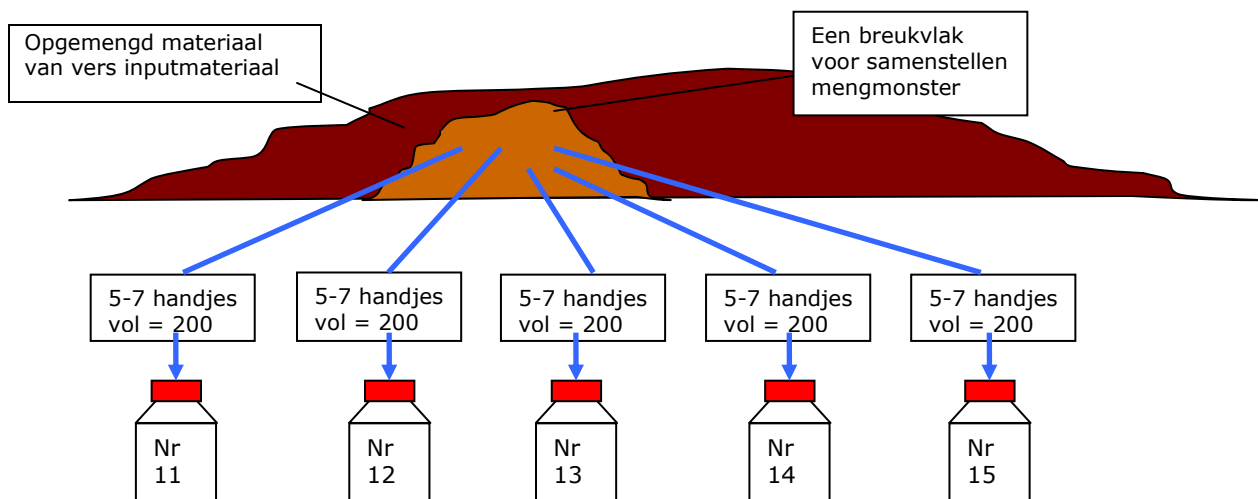
Figuur 5: Steriele pot van 250 ml. Gasuitwisseling wordt mogelijk gemaakt door het membraanfilter.

Tabel 1: Samengevat bemonsteringsschema per locatie:

	T = 0	Na thermofiele fase van proces	Na doorlopen alle processtappen
1. Reductieonderzoek: aanenting materiaal met ESBL-E. coli			
Referentiepotten	5 monsters in koelkast → naar lab		
Behandelde potten	5 monsters in productieproces →	5 monsters uit productieproces → lab	
Controle potten	5 potten met aangeent materiaal → opslaghal	5 monsters bewaard buiten proces in opslaghal bij omgevingscondities → lab	
2. Input-output onderzoek			
Input-output monsters	5 monsters inputmateriaal → naar lab		5 monsters outputmateriaal → naar lab
Controle potten input-output onderzoek	5 inputmonsters → opslaghal		5 monsters bewaard buiten proces in productiehal bij omgevingscondities → lab

3.3. Monsternameprotocol

De monstername van het inputmateriaal zal geschieden zoals geïllustreerd in figuur 6 (conform protocol van BRL keurcompost juli 2011).



Figuur 6: Monstername ten behoeve van studie naar afdoding ESBL bacteriën in een kippenmestcompostering

3.4. Maatregelen hygiëne

Om het risico van herbesmetting door de monstername zelf zoveel mogelijk te voorkomen worden strikte kledingvoorschriften in acht genomen. Over de normale kleding wordt een schone wegwerpoverall aangetrokken. Verder wordt er gebruik gemaakt van overlaarzen, mouwbeschermers, mondkapjes en steriele handschoenen.

Alle genomen monsters worden gekoeld (op 5 °C) vervoerd naar het laboratorium van KBBL te Wijhe (zie figuur 7)



Figuur 7. Gekoeld transport van de monsters naar KBBL

3.5. Registratie temperatuursgegevens

Tijdens het experiment zijn relevante gegevens van temperatuur en verblijftijd geregistreerd op de procescomputer. Dit is belangrijk om een duidelijk verband te kunnen leggen tussen het temperatuurtraject behaald tijdens het proces en de afdoding van *ESBL*-producerende *E. coli* in de potten die in het materiaal gebracht zijn. Aanvullend zijn geijkte dataloggers in de potten toegepast voor een nauwkeurige temperatuursbepaling.

3.6. Eigenschappen ingebrachte reïncultuur

De ingebrachte kweekcultuur is een *E. coli* geïsoleerd uit een gezond vleeskuiken (stamn. 38.16, MLST type 58) welke een IncI1 plasmide bevat met *ESBL*-gen CTX-M-1. Naast resistentie tegen ampicilline, cefotaxime en ceftazidime als gevolg van *ESBL*-productie, is deze stam ook resistent tegen tetracycline, sulfamethoxazole, trimethoprim en streptomycine. De stam is gevoelig voor ciprofloxacine, nalidixinezuur, colistine, gentamicine, kanamycine, chlooramfenicol en florfenicol (zie tabel 2). Het fenotype van deze stam is een *ESBL*-fenotype (inhibitiezones voor cefotaxime, cefotaxime+clavulaanzuur, ceftazidime, ceftazidime+clavulaanzuur, cefoxitin en meropenem zijn respectievelijk 15, 24, 24, 28, 26 en 30 mm), welke in de combinatie disk diffusietest getest zal worden. Van deze stam wordt een 0.5 McFarland = $1.5 \cdot 10^8$ cfu/ml oplossing gemaakt door de stam vanaf een verse kweek op bloedplaat (Heart Infusion Sheepblood (HIS) agar) te suspenderen in 1000 ml fysiologisch zout. In een voorstadium is de stabiliteit van de suspensie bepaald, deze bleek na 48 uur bewaren in de koelkast nog steeds evenveel cfu/ml te bevatten.

Tabel 2: MIC-waarden (mg/L) van de gebruikte *E. coli* stam voor ampicilline (Amp), cefotaxime (FOT), ceftazidime (TAZ), gentamicine (GEN), neomycine (NEO), tetracycline (TET), sulfamethoxazole (SMX), trimethoprim (TMP), ciprofloxacine (CIP), nalidixinezuur (NAL), florfenicol (FFN), chlooramfenicol (CHL). Waarden in groen = resistent.

Stamn.	Amp	FOT	TAZ	GEN	NEO	TET	SMX	TMP	CIP	NAL	FFN	CHL
38.16	> 64	> 16	1	0.5	<= 1	> 64	> 1024	> 64	<= 0.06	<= 2	4	8

3.7. Microbiologische analyse

Het microbiologisch onderzoek (kiemtelling) is uitgevoerd door het KBBL te Wijhe op MacConkey agarplaten met 1 mg/L cefotaxime. Platen met groei worden overgebracht naar het CVI te Lelystad. Daar zal bevestiging van de *ESBL*-producerende bacteriën plaatsvinden. Hiervoor is bij de platen afkomstig van het reductieonderzoek per plaat één op MacConkey fenotypisch *E. coli* lijkende kolonie reïngestreekt op een bloed(HIS)-

Afdoding ESBL in pluimveemest in composterings- en vergistingsinstallaties in Nederland

plaat, waarna een combinatie disk diffusie test is ingezet met cefotaxime met en zonder clavulaanzuur, ceftazidime met en zonder clavulaanzuur en cefoxitin op Mueller Hinton agar. Hiermee kan tevens onderscheid worden gemaakt tussen ESBL en AmpC-fenotype. Dit zijn twee fenotypes van bacteriën die enzymen aanmaken die beta-lactam antibiotica kunnen afbreken en die deze resistentie horizontaal door kunnen geven. Beide fenotypen kunnen gevonden worden in isolaten uit vleeskuikenmest (zie ook inleiding). Ter bevestiging of het om stam 38.16 gaat, zullen naast de ESBL-test, Minimale Inhiberende Concentraties (MICs) worden bepaald voor ampicilline, cefotaxime, ceftazidime, ciprofloxacin, nalidixinezuur, colistine, gentamycine, kanamycine, sulfamethoxazole, trimethoprim, streptomycine, tetracycline, chlooramfenicol en florfenicol met behulp van de micro- bouillon verdunningstest (Sensititre).

Van de platen verkregen uit het input-output onderzoek is per plaat bekeken hoeveel kolonies getest worden voor ESBL-productie afhankelijk van de morfologie van de kolonies op de plaat, indien aanwezig worden hierbij ook niet-*E. coli*-achtige kolonies onderzocht op de productie van ESBL.

4. Resultaten

Een overzicht van de analyseresultaten van zowel het reductieonderzoek als het input-output onderzoek is weergegeven in de tabellen van bijlage 3. Hieronder wordt van beide onderzoeken een overzicht gegeven waarbij de waarden zijn gepresenteerd als medianen. Het gebruik van de mediaan wordt hier geprefereerd boven het gemiddelde omdat bij lage concentraties alleen uitschieters naar boven mogelijk zijn en geen uitschieters naar beneden. Door deze scheve (niet normale verdeling) geeft het gemiddelde in veel gevallen een onwenselijke afwijking (in dit geval naar boven) en is het gebruik van de mediaan beter. Voor de volledigheid zijn alle analyseresultaten in de bijlage opgenomen.

4.1. Reductieonderzoek

In tabel 3 wordt een overzicht gegeven van de condities waaraan het materiaal in het proces tijdens het reductieonderzoek op de verschillende onderzoekslocaties is blootgesteld. Hierbij wordt onderscheid gemaakt tussen de condities gemeten gedurende het daadwerkelijke reductieonderzoek (omstandigheden in proces) en het controle onderzoek waarbij het materiaal werd blootgesteld aan de gedurende het reductieonderzoek heersende condities in de opslaghal. In tabel 3 zijn alleen de temperatuurgegevens weergegeven die gemeten zijn door de geijkte dataloggers welke in de potten waren aangebracht. Opgemerkt dient te worden dat de temperaturen zoals deze op de procescomputer van de verschillende verwerkingsbedrijven werden geregistreerd hier vrij nauwkeurig mee overeen kwamen. Aanvullend zijn ook de verblijftijden van het materiaal door het gehele proces (input-output onderzoek) weergegeven. De bijbehorende temperatuurscurves zijn weergegeven in bijlage 4.

Tabel 3: Temperatuur en blootstellingsduur van materiaal in het proces (tijdens reductieonderzoek) en in de opslaghal (tijdens controle)

	Tunnel	Trommel	Champ. subst.	Vergister
In proces (tijdens reductieonderzoek)				
blootstellingsduur (dagen)	0,5	1,75	3,9	0,1*
gem. temp in thermofiele fase (°C)	61 (max 64)	65 (max 70)	67 (max 69)	54 (max 55)
gem. temp. in opslaghal (°C) (controle)	9 (max 12)	11 (max 12)	8 (max 11)	12 (max 24)
Verblijftijd in gehele proces (input-output)				
blootstellingsduur (dagen)	7,8	2	28,9	14
Opslaghal (condities controle potten)				
Gem. temp in opslaghal (°C)	7 (max 12)	11 (max 12)	5 (max 15)	-4 (max 9)

* Er is in de vergister gedurende 7 uren gemeten. Na een blootstelling van 1,5 uur werd echter geen ESBL-*E. coli* meer aangetroffen. Derhalve deze periode als (minimale) blootstellingsduur opgenomen.

In tabel 4 wordt een overzicht gegeven van de resultaten van het reductieonderzoek. In de tabel is de mediaan van de analyse uitslagen weergegeven (berekening conform NTA8777).

Tabel 4: resultaten van het reductieonderzoek in de verschillende verwerkingsinstallaties.

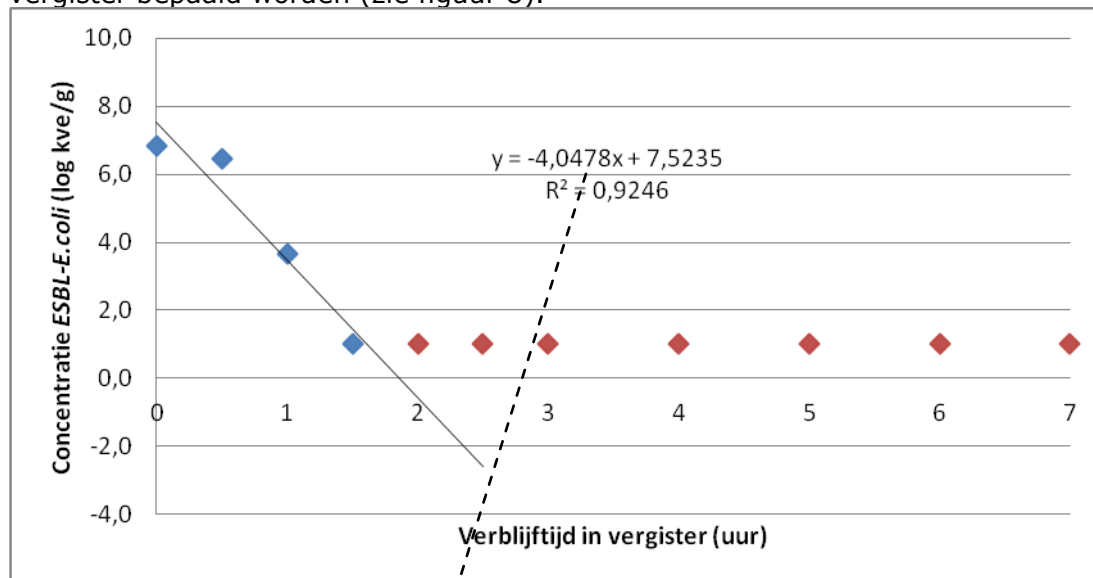
	Tunnel	<i>n</i> *	Trommel	<i>n</i> *	Champ. subst.	<i>n</i> *	Vergister	<i>n</i> *
aangeënt startmateriaal ESBL- <i>E. coli</i> (log kve/g)	6,5	5	6,2	5	6,5	5	6,8	5
behandeld ESBL- <i>E. coli</i> (log kve/g)	<1	0	<1	0	<1	0	<1	0
controle ESBL- <i>E. coli</i> (log kve/g)	6,5	5	6,0	5	6,4	5	6,9	5
reductie in proces (logeenheden)	>5,5	-	>5,2	-	>5,5	-	>5,8	-
reductie buiten proces (logeenheden)	0,04	-	0,19	-	0,12	-	-0,08	-

* aantal positieve uitslagen van de 5 monsters

** na een blootstellingsduur van 1,5 uur werd geen (<10 kve/g) ESBL-*E. coli* meer aangetroffen.

Uit de resultaten blijkt dat alle verwerkingsmethoden de ESBL-producerende *E. coli* elimineren tot onder de detectiegrens van <10 kolonievormende eenheden per gram. Dit resulteerde bij alle methoden in een uiteindelijke reductie van de ESBL-producerende *E. coli* met meer dan 5 logeenheden. Buiten het proces was de reductie consequent vrijwel verwaarloosbaar.

Bij de vergistingsinstallatie is conform NTA 8777 ook het concentratieverloop van ESBL-producerende *E. coli* over de tijd uitgezet in de grafiek. Hiermee kan middels de richtingscoëfficiënt van de trendlijn de D-waarde van ESBL-producerende *E. coli* in de vergister bepaald worden (zie figuur 8).



Figuur 8: Concentratieverloop van ESBL-producerende *E. coli* in de vergister. De rode punten in de grafiek zijn niet meegenomen voor de bepaling van de trendlijn.

Op $t=0$ is de mediaan van de concentratie ESBL-producerende *E. coli* in alle referentiepotten gebruikt. De trendlijn is hierbij bepaald op basis van de gegevens van de eerste 1,5 uur (tot de detectiegrens werd bereikt, conform NTA 8777). Immers, als ook de laatste 7 punten (in rood aangegeven in de grafiek) in de calculatie van de trendlijn zou worden meegenomen, zou dit een lagere richtingscoëfficiënt opleveren en daarmee een overschatting van de werkelijke D-waarde.

De D-waarde = $(1 / 4,0478) = 0,25$ uur = 14,8 minuten

Het duurt dus 14,8 minuten om de concentratie ESBL producerende *E. coli* met 1 logeenheid te laten dalen.

4.2. Input-output onderzoek

In tabel 5 zijn de resultaten van het input-output onderzoek op de verschillende verwerkingslocaties weergegeven. Hierbij zijn de resultaten wederom als mediaan gepresenteerd.

Tabel 5: resultaten van het input-output onderzoek. Tabel A geeft de concentratie van ESBL-producerende *E. coli* in de onbehandeld inputmateriaal en tabel B geeft de totale concentratie *E. coli* bacteriën in het onbehandelde inputmateriaal in ¹⁰log kolonievormende eenheden per gram (log kve/g).

A	Tunnel	<i>n</i> *	Trommel	<i>n</i> *	Champ. subst.	<i>n</i> *	Vergister	<i>n</i> *
input ESBL- <i>E. coli</i> (log kve/g)	<1	1	<1	0	3,4	5	<1	1
output ESBL- <i>E. coli</i> (log kve/g)	<1	0	<1	0	<1	0	<1	0
controle ESBL- <i>E. coli</i> (log kve/g)	<1	0	<1	0	<1	0	<1	0
reductie ESBL- <i>E. coli</i> in proces (log)	-	-	-	-	>2,4	-	-	-
reductie ESBL- <i>E. coli</i> buiten proces (log)	-	-	-	-	>2,4	-	-	-

B	Tunnel	<i>n</i> *	Trommel	<i>n</i> *	Champ. subst.	<i>n</i> *	Vergister	<i>n</i> *
input <i>E. coli</i> (log kve/g)	2,6	5	3,8	5	>5,7	5	4,8	5
output <i>E. coli</i> (log kve/g)	<1	0	<1	0	<1	0	<1	0
controle <i>E. coli</i> (log kve/g)	<1,6	4	3,2	5	3,4	5	3,4	5
reductie <i>E. coli</i> in proces (log)	>1,6	-	>2,8	-	>4,7	-	>3,8	-
reductie <i>E. coli</i> buiten proces (log)	>1,0	-	0,58	-	>2,3	-	1,4	-

* aantal positieve uitslagen van de 5 monsters

In deze studie zijn op 3 van de 4 locaties tijdens de onderzoeksperiode ESBL-producerende *E. coli* in het inputmateriaal aangetroffen. Alleen bij het trommelcomposteerbedrijf werd geen ESBL-producerende *E. coli* aangetroffen. Bij navraag bij het betreffende trommelcomposteerbedrijf werd aangegeven dat men is afgestapt van gebruik van vleeskuikenmest en momenteel alleen nog leghennenmest toepast in de compostering. De bedrijfsleider wees de hoge concentraties antibiotica aan als oorzaak voor slechte composteerresultaten bij toepassing van slachtkuikenmest. De toepassing van leghennenmest in plaats van vleeskuikenmest verklaart mogelijk de afwezigheid van ESBL op dit bedrijf, omdat men vermoedt dat de besmettingsgraad van ESBL-producerende *E. coli* in deze sector lager ligt.

De concentratie ESBL-producerende *E. coli* waren bij alle onderzoekslocaties relatief laag ten opzichte van de reguliere *E. coli* (in alle inputmonsters in grote getale aanwezig). Op alle bedrijven werden zowel ESBL-producerende *E. coli* als reguliere *E. coli* niet aangetoond in het eindproduct. Dit ondersteunt de conclusie dat tijdens het proces *E. coli* effectief wordt afgedood. Daarnaast geven deze resultaten aan dat de bedrijfsvoering op onderzochte bedrijven dermate hygiënisch is dat het risico op kruis- en/of herbesmetting binnen het proces zeer laag is.

4.3. Identificatie en bevestiging resistente *E. coli* isolaten

Op alle telplaten waarop ESBL-producerende *E. coli* zijn aangetroffen, is door middel van een disk diffusietest een bevestiging voor ESBL-productie uitgevoerd. In alle gevallen werd bevestigd dat het om cefotaxime resistente stammen ging en bij alle isolaten op één na (input-tunnelcompostering) dat dit het gevolg was van ESBL-productie door de

Afdoding ESBL in pluimveemest in composterings- en vergistingsinstallaties in Nederland

bacterie(zie bijlage 1). De ene stam uit het input materiaal bij het input/output onderzoek van de tunnelcompostering bleek wel resistent voor cefotaxime, maar het is onduidelijk of dit bij deze stam het gevolg was van plasmidgedieerde resistentie. Echter na verwerking werd ook deze resistente stam niet teruggevonden in het materiaal. Tevens kan met de disk diffusietest AmpC-varianten van ESBL-productie onderscheiden worden. De ingebrachte stam (38.16) bij het reductie-onderzoek had een ESBL-fenotype, wat ook steeds terugkwam bij de bevestiging van de isolaten uit het reductieonderzoek. Slechts in één isolaat werd het AmpC-fenotype aangetroffen. Dit betrof het inputmateriaal voor het input/output onderzoek van de thermofiele vergister. Dit komt overeen met wat er in vleeskuikenmest gevonden kan worden.. Uit het onderzoek op basis van minimale inhiberende concentraties werd verder bevestigd dat in de isolaten uit het reductieonderzoek alleen de stam 38.16 werd teruggevonden (zie bijlage 2). Dit was ook de stam waarmee is aangeënt.

5. Conclusie en aanbevelingen

In Nederland komt jaarlijks bijna 1,3 - 1,5 Mln ton pluimveemest vrij. Hiervan is één derde afkomstig van vleeskuikenmeststrijken waarvan bekend is dat deze mest in hoge mate besmet is met antibioticaresistente, ESBL-producerende bacteriën. Van de pluimveemest productie wordt 50-60% in Nederland verbrand of verwerkt tot mestproducten. Naar schatting wordt 75.000 ton overwerkt toegepast in de landbouw en representeert daarmee een potentiële bedreiging voor de volksgezondheid. Ook wordt naar schatting 435.000 ton onverwerkt geëxporteerd naar voornamelijk Duitsland. Binnen de pluimveemestverwerking is enige vorm van composteren een veel toegepaste methode (naar schatting 40%). Hierbij wordt middels gecontroleerde broei de mest (i) gedroogd om daarna aansluitend te pelletteren of (ii) gehygiëniseerd en microbiologisch afgebroken om te dienen als substraat in de champignoncultuur. Pluimveemest wordt in Nederland op dit moment slechts in beperkte mate (ca 2%) vergist.

Uit het reductieonderzoek blijkt dat in alle onderzochte verwerkingsmethoden pluimveemest in het proces voldoende lang wordt blootgesteld aan hoge temperaturen om ESBL-producerende *E. coli* te elimineren tot onder de detectiegrens. Het belang van de temperatuur als cruciale factor in de overleving van ziekteverwekkers werd bevestigd door de negatieve controle. Bij gelijke verblijftijd buiten het proces werd slechts een verwaarloosbare afname gemeten. De gerealiseerde reductie in het proces was in alle gevallen groter dan 5 logeenheden. Als referentie voor deze afname is gekeken naar de Europese verordening dierlijke bijproducten (EG) No 1069/2009 en implementatieverordening (EG) No 142/2011. Hierin wordt voor verwerkingsbedrijven voor o.a. mest (categorie 2 materiaal) een minimale afname van 5 logeenheden in het proces geëist voor indicator-organismen *Enterococcus faecalis* of *Salmonella Seftenberg* (H₂S negatief, type 775). Gezien de vergelijkbare thermoresistentie van beide indicatororganismen lijkt het zeer aannemelijk dat verwerkingsbedrijven welke reeds door de VWA erkend zijn voor de verwerking van mest en dus voldoen aan de Europese verordening, ook effectief ESBL-producerende *E. coli* in hun proces afdoden.

De resultaten van het reductieonderzoek worden bevestigd door de resultaten van het input-output onderzoek. Hoewel de concentratie ESBL-producerende *E. coli* in het inputmateriaal zeer laag of zelfs geheel afwezig (één van de vier locaties) was, was in alle gevallen het eindproduct kiemvrij voor deze bacteriën. Ook reguliere *E. coli* (in hoge aantallen aanwezig in input) werd niet teruggevonden in het eindproduct.

Op basis van het experimentele onderzoek worden de volgende conclusies geformuleerd.

- Op de onderzoekslocaties ondergaat bij reguliere bedrijfsvoering de pluimveemest tijdens het verwerkingsproces (omvattend een composterings-, of vergistingsstap) een afdoende tijd-temperatuursbehandeling om effectief zowel ESBL-producerende *E. coli* als reguliere *E. coli* te elimineren tot beneden de detectiegrens. Deze tijd-temperatuurcombinaties zoals gemeten gedurende de reguliere procesvoering zijn:

Verwerkingsmethode	Aandeel pluimveemest in input	Temp. in thermofiele fase	Verblijftijd thermofiele fase	Gerealiseerde reductie ESBL (¹⁰ logeenheden)
tunnelcompostering	100%	61 °C	12 uur	5,5
trommelcompostering	>40%	65 °C	42 uur	5,2
champignonsubstraat producent	12%	67 °C	93 uur	5,5
co-vergistingsinstallatie	5%	54 °C	1,5 uur	5,8

Afdoding ESBL in pluimveemest in composterings- en vergistingsinstallaties in Nederland

- Op geen van de onderzoekslocaties werd *E. coli* of ESBL-producerende *E. coli* aangetroffen in het eindproduct. De procesvoering op de onderzochte bedrijven is dus dermate hygiënisch dat kruis- en/of herbesmetting niet werd aangetoond.

De Europese verordening dierlijke bijproducten stelt eisen aan verwerkers van mestproducten, zowel aan de (hygiënische) procesvoering als aan de reductiecapaciteit voor ziekteverwekkers in het proces. Ten behoeve van erkenning worden minimale procescondities (tijd/temperatuurcombinaties) vastgesteld en geborgd in een HACCP. Nederland volgt de Europese verordening. De vier in dit onderzoek betrokken verwerkingslocaties zijn in het bezit van een erkenning en volgen in dat kader vastgestelde minimale procescondities en hygiëne maatregelen. De resultaten ondersteunen de aanname dat daarmee ook de afdoding van ESBL-producerende *E. coli* is geborgd (voor zover aanwezig in de input). Gezien de resultaten is het zeer aannemelijk dat erkende mestvergisters en mestcomposteerdere *met een erkenning voor productie van verwerkte mest* ESBL-producerende *E. coli* effectief elimineren. Daarmee verlaagt deze verwerkingsroute het risico voor de volksgezondheid van verdere verspreiding antibiotica-resistente microorganismen via de bodem en oppervlaktewater naar land- en tuinbouw producten.

In dit rapport is het pelleteren niet als aparte verwerkingsmethode meegenomen. Een aantal Nederlandse bedrijven verwerkt door boeren voorgedroogde mest tot mestkorrels. Bij deze verwerkingsmethode wordt over het algemeen geen "hygiënisatie fase" gehanteerd, maar er treedt wel temperatuurverhoging op voor- of tijdens het persen in de matrijs van de korrelpers. Aangezien via deze route ook veel pluimveemest verwerkt wordt, verdient het aanbeveling om ook de verwerkingsmethode pelleteren op ESBL-reducerende capaciteit te evalueren.

6. Referenties

1. Dierikx C., van Essen-Zandbergen A., Veldman K., Smith H., Mevius D. (2010) *Increased detection of extended spectrum beta-lactamase producing Salmonella enterica and Escherichia coli isolates from poultry*. Vet. Microbiol. 145: 273-278
2. Knapp C.W., Dolfing J., Ehlert P.A.I., Graham D.W. (2010) *Evidence of increasing antibiotic resistance gene abundances in archived soils since 1940*. Envir. Sci. Technol. 44: 580-587.
3. Ruimy R., Brisabois A., Bernede C., Skurnik D., Barnat S., Arlet G., Momcilovic S. Elbaz S., Moury F., Vibel M-A., Courvalin P., Guillemot D., Andremont A. (2010) *Organic and conventional fruits and vegetables contain equivalent counts of Gram-negative bacteria expressing resistance to antibacterial agents*. Environm. Microbiol. 12: 608-615.
4. Leverstein-van Hall M.A., Dierikx C.M., Cohen-Stuart J., Voets G.M., van den Munckhof T.P., van Essen-Zandbergen A., Platteel T., Fluit A.C., van de Sande-Bruinsma N., Scharinga J., Bonten M.J.M., Mevius D.J. (2011) *Dutch patients, retail chicken meat and poultry share the same ESBL genes, plasmids and strains*. Clin. Microbiol. and Infection 17: 873-880.
5. Franz E. (2007) *Ecology and Risk Assessment of E. coli O 157:H7 and Salmonella typhimurium in Primary Production Chain of Lettuce*. PhD-thesis Wageningen Universiteit en Research Center.
6. Guan J, Wasty A, Grenier C, Chan M (2007). *Influence of temperature on survival and conjugative transfer of multiple antibiotic-resistant plasmids in chicken manure and compost microcosms*. Poultry Sci. 86(4):610-613
7. Mevius D (2008). *Resistentie, een gevoelig onderwerp*. Oratietekst inaugurele rede 26 november 2008, University of Utrecht, the Netherlands

Bijlage 1: Resultaten CVI: ESBL bevestigingen uit isolaten KBBL**A. Tunnelcompostering**

Uitslag ESBL										
Naam project: Compostproject Elsinga 2										
Tunnelcompostering										
ESBL-test (mm) 0.5 MCFarland op Mueller Hinton-agar										
Monsternr.	Soort materiaal	Datum monstername	Indol	TAZ	TAZ+CL V	FOT	FOT+CL V	FOX	MER	Uitslag Fenotype
20120112 MIN tun 1A	referentie aangeënt materiaal	12-jan-12	+	28	28	16	29	26	28	ESBL
20120112 MIN tun 2A	referentie aangeënt materiaal	12-jan-12	+	27	27	16	29	26	29	ESBL
20120112 MIN tun 3A	referentie aangeënt materiaal	12-jan-12	+	27	27	15	28	25	27	ESBL
20120112 MIN tun 4A	referentie aangeënt materiaal	12-jan-12	+	28	28	17	29	26	30	ESBL
20120112 MIN tun 5A	referentie aangeënt materiaal	12-jan-12	+	28	28	17	29	26	29	ESBL
20120112 MIN tun 6	Controle: Aangeënt manteriaal, in opslag bewaard (12 uur)	12-jan-12	+	28	28	16	28	26	29	ESBL
20120112 MIN tun 7	Controle: Aangeënt manteriaal, in opslag bewaard (12 uur)	12-jan-12	+	28	28	16	28	27	29	ESBL
20120112 MIN tun 8	Controle: Aangeënt manteriaal, in opslag bewaard (12 uur)	12-jan-12	+	28	28	16	28	26	29	ESBL
20120112 MIN tun 9	Controle: Aangeënt manteriaal, in opslag bewaard (12 uur)	12-jan-12	+	28	28	16	29	27	30	ESBL
20120112 MIN tun 10	Controle: Aangeënt manteriaal, in opslag bewaard (12 uur)	12-jan-12	+	27	27	17	30	26	30	ESBL
20120111 MIN tun 11	Representatief inputmateriaal tunnel	11-jan-12	+	23	23	25	26	19	31	AmpC-verdacht/geen AmpC/ESBL
<i>E. coli</i> ATCC 25922			+	29	29	32	34	27	32	
<i>K. pneumoniae</i> 700603			-	15	26	25	30	16	31	

B. Trommelcompostering

Uitslag ESBL										
Naam project:		Compostproject Elsinga 2								
Trommelcompostering										
ESBL-test (mm) 0.5 MCFarland op Mueller Hinton-agar										
Monsternr.	Soort materiaal	Datum monstername	Indol	TAZ	TAZ+CL V	FOT	FOT+CL V	FOX	MER	Uitslag Fenotype
20120110 MIN tro 1A	referentie aangeënt materiaal	10-jan-12	+	24	28	16	29	24	28	ESBL
20120110 MIN tro 2A	referentie aangeënt materiaal	10-jan-12	+	24	27	16	28	25	28	ESBL
20120110 MIN tro 3A	referentie aangeënt materiaal	10-jan-12	+	25	28	16	28	26	29	ESBL
20120110 MIN tro 4A	referentie aangeënt materiaal	10-jan-12	+	23	28	16	28	26	29	ESBL
20120110 MIN tro 5A	referentie aangeënt materiaal	10-jan-12	+	24	27	15	27	25	29	ESBL
20120111 MIN tro 6	Controle: Aangeënt materiaal, in opslag bewaard (12 uur)	12-jan-12	+	25	29	17	30	26	30	ESBL
20120111 MIN tro 7	Controle: Aangeënt materiaal, in opslag bewaard (12 uur)	12-jan-12	+	26	29	16	28	26	29	ESBL
20120111 MIN tro 8	Controle: Aangeënt materiaal, in opslag bewaard (12 uur)	12-jan-12	+	25	29	16	29	25	29	ESBL
20120111 MIN tro 9	Controle: Aangeënt materiaal, in opslag bewaard (12 uur)	12-jan-12	+	25	27	16	27	25	29	ESBL
20120111 MIN tro 10	Controle: Aangeënt materiaal, in opslag bewaard (12 uur)	12-jan-12	+	25	28	16	28	26	29	ESBL
<i>E. coli</i> ATCC 25922			+	29	29	32	34	27	32	
<i>K. pneumoniae</i> 700603			-	15	26	25	30	16	31	

C. Champignonsubstraat producent

Uitslag ESBL										
Naam project:	Compostproject Elsinga 2									
Champignon										
ESBL-test (mm) 0,5 MCFarland op Mueller Hinton-agar										
Monsternr.	Soort materiaal	Datum monsterna me	Indol	TAZ	TAZ+CL V	FOT	FOT+CL V	FOX	MER	Uitslag Fenotype
20120119 Min cha 1A	Referentie aangeënt materiaal	19-jan-12	+	23	28	15	26	26	30	ESBL
20120119 Min cha 2A	Referentie aangeënt materiaal	19-jan-12	+	26	28	16	28	27	29	ESBL
20120119 Min cha 3A	Referentie aangeënt materiaal	19-jan-12	+	26	28	16	27	26	30	ESBL
20120119 Min cha 4A	Referentie aangeënt materiaal	19-jan-12	+	25	30	17	27	27	31	ESBL
20120119 Min cha 5A	Referentie aangeënt materiaal	19-jan-12	+	25	29	16	28	26	30	ESBL
20120119 Min cha 6	Controle: Aangeënt materiaal, in opslag bewaard	19-jan-12	+	26	30	15	29	27	31	ESBL
20120119 Min cha 7	Controle: Aangeënt materiaal, in opslag bewaard	19-jan-12	+	27	29	17	27	27	31	ESBL
20120119 Min cha 8	Controle: Aangeënt materiaal, in opslag bewaard	19-jan-12	+	25	29	17	28	27	32	ESBL
20120119 Min cha 9	Controle: Aangeënt materiaal, in opslag bewaard	19-jan-12	+	28	30	15	27	27	31	ESBL
20120119 Min cha 10	Controle: Aangeënt materiaal, in opslag bewaard	19-jan-12	+	27	29	16	29	26	32	ESBL
20120119 Min cha 11	representatief input materiaal	19-jan-12	+	29	32	18	30	27	32	ESBL
20120119 Min cha 12	representatief input materiaal	19-jan-12	+	27	30	17	29	26	32	ESBL
20120119 Min cha 13	representatief input materiaal	19-jan-12	+	27	29	15	30	25	32	ESBL
20120119 Min cha 14	representatief input materiaal	19-jan-12	+	25	28	17	28	25	31	ESBL
20120119 Min cha 15	representatief input materiaal	19-jan-12	+	17	29	16	29	25	32	ESBL
<i>E. coli</i> ATCC 25922			+	31	31	35	34	28	33	
<i>K. pneumoniae</i> BAA1705 KPC+			-	11*	13	15*	15	12	15*	

D. Co-vergistingsinstallatie

Uitslag ESBL										
Naam project:		Compostproject Elsinga 2								
Vergister										
ESBL-test (mm) 0,5 MCFarland op Mueller Hinton-agar										
Monsternr.	Soort materiaal	Datum monstername	Indol	TAZ	TAZ+CL V	FOT	FOT+CL V	FOX	MER	Uitslag Fenotype
20120117 MIN ver 1A	Referentie aangeënt materiaal	17-jan-12	+	26	29	17	29	27	32	ESBL
20120117 MIN ver 2A	Referentie aangeënt materiaal	17-jan-12	+	26	30	16	28	27	31	ESBL
20120117 MIN ver 3A	Referentie aangeënt materiaal	17-jan-12	+	26	30	17	28	28	31	ESBL
20120117 MIN ver 4A	Referentie aangeënt materiaal	17-jan-12	+	27	29	17	28	26	31	ESBL
20120117 MIN ver 5A	Referentie aangeënt materiaal	17-jan-12	+	27	31	17	28	28	32	ESBL
20120117 MIN ver 6A	Referentie aangeënt materiaal	17-jan-12	+	25	29	17	29	27	31	ESBL
20120117 MIN ver 7A	Referentie aangeënt materiaal	17-jan-12	+	25	29	18	29	28	32	ESBL
20120117 MIN ver 8A	Referentie aangeënt materiaal	17-jan-12	+	25	29	17	27	27	31	ESBL
20120117 MIN ver 9A	Referentie aangeënt materiaal	17-jan-12	+	26	29	17	28	26	31	ESBL
20120117 MIN ver 10A	Referentie aangeënt materiaal	17-jan-12	+	26	29	17	27	26	30	ESBL
20120117 MIN ver 11	Controle: aangeënt materiaal, in opslag bewaard	17-jan-12	+	26	30	17	29	27	30	ESBL
20120117 MIN ver 12	Controle: aangeënt materiaal, in opslag bewaard	17-jan-12	+	26	30	18	29	27	31	ESBL
20120117 MIN ver 13	Controle: aangeënt materiaal, in opslag bewaard	17-jan-12	+	25	30	16	28	27	31	ESBL
20120117 MIN ver 14	Controle: aangeënt materiaal, in opslag bewaard	17-jan-12	+	26	29	17	29	27	31	ESBL
20120117 MIN ver 15	Controle: aangeënt materiaal, in opslag bewaard	17-jan-12	+	26	29	16	28	26	32	ESBL
20120117 MIN ver 1	Behandeld materiaal 0,5 uur	17-jan-12	+	26	28	16	28	27	31	ESBL
20120117 MIN ver 2	Behandeld materiaal 1 uur	17-jan-12	+	26	29	16	29	27	32	ESBL
30120127 Min ver 16-1	Representatief inputmateriaal thermofiele vergister	27-jan-12	+	18	20	20	19	14	30	AmpC
<i>E. coli</i> ATCC 25922			+	31	31	35	34	28	33	
<i>K. pneumoniae</i> BAA1705 KPC+			-	11*	13	15*	15	12	15*	

Bijlage 2: Resultaten CVI: identificatie isolaten met MIC's

Code	Monsternr.	DATE	PLATE	AMP	CHL	CIP	COL	FFN	FOT	GEN	KAN	NAL	SMX	STR	TAZ	TET	TMP
38.16 compostinputslam	controle 38.16	5-1-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	1	<=4	<=4	>1024	128	1	>64	>32
COMPOST ECO 1	20120110 Min tro 1A	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	0,5	<=4	<=4	>1024	128	2	>64	>32
COMPOST ECO 2	20120110 Min tro 2A	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,03	<=2	8	>4	0,5	<=4	<=4	>1024	128	1	>64	>32
COMPOST ECO 3	20120110 Min tro 3A	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	0,5	<=4	<=4	>1024	64	1	>64	>32
COMPOST ECO 4	20120110 Min tro 4A	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	0,5	<=4	<=4	>1024	128	1	>64	>32
COMPOST ECO 5	20120110 Min tro 5A	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,03	<=2	8	>4	0,5	<=4	<=4	>1024	128	1	>64	>32
COMPOST ECO 6	20120111 Min tro 6	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	0,5	<=4	<=4	>1024	128	1	>64	>32
COMPOST ECO 7	20120111 Min tro 7	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	1	<=4	<=4	>1024	64	1	>64	>32
COMPOST ECO 8	20120111 Min tro 8	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	1	<=4	<=4	>1024	128	1	>64	>32
COMPOST ECO 9	20120111 Min tro 9	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	0,5	8	8	>1024	>128	1	>64	>32
COMPOST ECO 10	20120111 Min tro 10	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	0,5	<=4	<=4	>1024	64	1	>64	>32
COMPOST ECO 11	20120112 Mintun 1A	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	0,5	<=4	<=4	>1024	128	2	>64	>32
COMPOST ECO 12	20120112 Mintun 2A	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	1	<=4	<=4	>1024	128	1	>64	>32
COMPOST ECO 13	20120112 Mintun 3A	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	1	<=4	<=4	>1024	128	1	>64	>32
COMPOST ECO 14	20120112 Mintun 4A	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	0,5	<=4	<=4	>1024	128	2	>64	>32
COMPOST ECO 15	20120112 Mintun 5A	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	0,5	<=4	<=4	>1024	64	1	>64	>32
COMPOST ECO 16	20120112 Mintun 6	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	2	<=4	<=4	>1024	128	2	>64	>32
COMPOST ECO 17	20120112 Mintun 7	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	1	<=4	<=4	>1024	64	2	>64	>32
COMPOST ECO 18	20120112 Mintun 8	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	1	<=4	<=4	>1024	>128	1	>64	>32
COMPOST ECO 19	20120112 Mintun 9	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,03	<=2	8	>4	1	<=4	<=4	>1024	128	1	>64	>32
COMPOST ECO 20	20120112 Mintun 10	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	1	<=4	<=4	>1024	64	1	>64	>32
COMPOST ECO 22	20120117 Minver 1A	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	2	<=4	<=4	>1024	128	2	>64	>32
COMPOST ECO 23	20120117 Minver 2A	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	0,5	<=4	<=4	>1024	64	1	>64	>32
COMPOST ECO 24	20120117 Minver 3A	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	0,5	<=4	<=4	>1024	64	1	>64	>32
COMPOST ECO 25	20120117 Minver 4A	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	2	8	<=4	>1024	64	1	>64	>32
COMPOST ECO 26	20120117 Minver 5A	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	0,5	<=4	<=4	>1024	128	1	>64	>32
COMPOST ECO 27	20120117 Minver 6A	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	0,5	<=4	<=4	>1024	128	1	>64	>32
COMPOST ECO 28	20120117 Minver 7A	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	0,5	<=4	<=4	>1024	64	1	>64	>32
COMPOST ECO 29	20120117 Minver 8A	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	0,5	<=4	<=4	>1024	128	1	>64	>32
COMPOST ECO 30	20120117 Minver 9A	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	0,5	<=4	<=4	>1024	64	1	>64	>32
COMPOST ECO 31	20120117 Minver 10A	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	1	<=4	<=4	>1024	>128	2	>64	>32
COMPOST ECO 32	20120117 Minver 11	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	0,5	<=4	<=4	>1024	128	1	>64	>32
COMPOST ECO 33	20120117 Minver 12	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,03	<=2	8	>4	0,5	<=4	<=4	>1024	128	1	>64	>32
COMPOST ECO 34	20120117 Minver 13	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	0,5	<=4	<=4	>1024	128	1	>64	>32
COMPOST ECO 35	20120117 Minver 14	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	0,5	<=4	<=4	>1024	128	1	>64	>32
COMPOST ECO 36	20120117 Minver 15	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	0,5	<=4	<=4	>1024	128	1	>64	>32
COMPOST ECO 37	20120117 Minver 1	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	1	<=4	<=4	>1024	128	1	>64	>32
COMPOST ECO 38	20120117 Minver 2	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	1	<=4	<=4	>1024	>128	1	>64	>32
COMPOST ECO 39	20120119 Mincha 1A	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,03	<=2	8	>4	0,5	<=4	<=4	>1024	128	1	>64	>32
COMPOST ECO 40	20120119 Mincha 2A	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	0,5	<=4	<=4	>1024	64	1	>64	>32
COMPOST ECO 41	20120119 Mincha 3A	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	0,5	<=4	<=4	>1024	>128	1	>64	>32
COMPOST ECO 42	20120119 Mincha 4A	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	0,5	<=4	<=4	>1024	64	1	>64	>32
COMPOST ECO 43	20120119 Mincha 5A	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	0,5	<=4	<=4	>1024	128	1	>64	>32
COMPOST ECO 44	20120119 Mincha 6	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	0,5	8	<=4	>1024	>128	1	>64	>32
COMPOST ECO 45	20120119 Mincha 7	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	0,5	<=4	<=4	>1024	128	2	>64	>32
COMPOST ECO 46	20120119 Mincha 8	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	0,5	<=4	<=4	>1024	128	2	>64	>32
COMPOST ECO 47	20120119 Mincha 9	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	0,5	<=4	<=4	>1024	128	1	>64	>32
COMPOST ECO 48	20120119 Mincha 10	16-2-2012	EUMVS2	>32	8	0,015	<=2	8	>4	1	<=4	8	>1024	128	1	>64	>32
Eco 160212 b	controle	16-2-2012	EUMVS2	4	4	0,015	<=2	4	<=0,06	0,5	<=4	<=4	<=8	4	<=0,25	<=1	<=0,5
Eb 160212 b	controle	16-2-2012	EUMVS2	1	4	0,5	>4	<=2	>4	8	64	>64	>1024	128	>16	16	<=0,5

Bijlage 3: Resultaten microbiologische analyses KBBL**A. Tunnelcompostering**

Tunnelcompostering Reductieonderzoek				
	monsternr	ESBL kve/g	Ecoli kve/g	bloedplaat
referentie	20120111 MIN tun 1A	3.500.000		aanwezig
referentie	20120111 MIN tun 2A	3.800.000		aanwezig
referentie	20120111 MIN tun 3A	4.200.000		aanwezig
referentie	20120111 MIN tun 4A	3.000.000		aanwezig
referentie	20120111 MIN tun 5A	2.200.000		aanwezig
behandeld	20120112 MIN tun 1	<10	<10	
behandeld	20120112 MIN tun 2	<10	<10	
behandeld	20120112 MIN tun 3	<10	<10	
behandeld	20120112 MIN tun 4	<10	<10	
behandeld	20120112 MIN tun 5	<10	<10	
controle	20120112 MIN tun 6	3.200.000		aanwezig
controle	20120112 MIN tun 7	2.100.000		aanwezig
controle	20120112 MIN tun 8	4.000.000		aanwezig
controle	20120112 MIN tun 9	3.200.000		aanwezig
controle	20120112 MIN tun 10	3.700.000		aanwezig
Tunnelcompostering input-output				
	monsternr	ESBL kve/g	Ecoli kve/g	bloedplaat
input	20120111 Min tun 11	100	300	aanwezig
input	20120111 Min tun 12	<10	100	
input	20120111 Min tun 13	<10	2200	
input	20120111 Min tun 14	<10	700	
input	20120111 Min tun 15	<10	400	
output	20120119 MIN tun 16	<10	<10	
output	20120119 MIN tun 17	<10	<10	
output	20120119 MIN tun 18	<10	<10	
output	20120119 MIN tun 19	<10	<10	
output	20120119 MIN tun 20	<10	<10	
controle	20120111 MIN tun 21	<10	<40	
controle	20120111 MIN tun 22	<10	<10	
controle	20120111 MIN tun 23	<10	600	
controle	20120111 MIN tun 24	<10	<40	
controle	20120111 MIN tun 25	<10	<40	

B. Trommelcompostering

Trommelcompostering reductieonderzoek				
	monsternr	ESBL kve/g	Ecoli kve/g	bloedplaat
referentie	20120110 MIN tro 1A	2.100.000		aanwezig
referentie	20120110 MIN tro 2A	1.600.000		aanwezig
referentie	20120110 MIN tro 3A	1.700.000		aanwezig
referentie	20120110 MIN tro 4A	2.100.000		aanwezig
referentie	20120110 MIN tro 5A	1.500.000		aanwezig
behandeld	20120111 MIN tro 1	<10	<10	
behandeld	20120111 MIN tro 2	<10	<10	
behandeld	20120111 MIN tro 3	<10	<10	
behandeld	20120111 MIN tro 4	<10	<10	
behandeld	20120111 MIN tro 5	<10	<10	
controle	20120111 MIN tro 6	1.100.000		aanwezig
controle	20120111 MIN tro 7	1.300.000		aanwezig
controle	20120111 MIN tro 8	1.200.000		aanwezig
controle	20120111 MIN tro 9	960.000		aanwezig
controle	20120111 MIN tro 10	1.100.000		aanwezig
Trommelcompostering input-output				
	monsternr	ESBL kve/g	Ecoli kve/g	bloedplaat
input	20120110 MIN tro 11	<10	3300	
input	20120110 MIN tro 12	<10	3800	
input	20120110 MIN tro 13	<10	6500	
input	20120110 MIN tro 14	<10	130000	
input	20120110 MIN tro 15	<10	26000	
output	20120111 MIN tro 16	<10	<10	
output	20120111 MIN tro 17	<10	<10	
output	20120111 MIN tro 18	<10	<10	
output	20120111 MIN tro 19	<10	<10	
output	20120111 MIN tro 20	<10	<10	
controle	20120111 MIN tro 21	<10	1700	
controle	20120111 MIN tro 22	<10	1500	
controle	20120111 MIN tro 23	<10	1400	
controle	20120111 MIN tro 24	<10	5500	
controle	20120111 MIN tro 25	<10	3100	

C. Champignonsubstraatproducent

Champignonsubstraatproducent Reductieonderzoek				
	monsternr	ESBL kve/g	Ecoli kve/g	bloedplaat
referentie	20120119 MIN cha 1a	4.800.000		aanwezig
referentie	20120119 MIN cha 2a	3.200.000		aanwezig
referentie	20120119 MIN cha 3a	3.000.000		aanwezig
referentie	20120119 MIN cha 4a	2.700.000		aanwezig
referentie	20120119 MIN cha 5a	1.500.000		aanwezig
behandeld	20120119 MIN cha 1	<10	<10	
behandeld	20120119 MIN cha 2	<10	<10	
behandeld	20120119 MIN cha 3	<10	<10	
behandeld	20120119 MIN cha 4	<10	<10	
behandeld	20120119 MIN cha 5	<10	<10	
controle	20120119 MIN cha 6	3.700.000		aanwezig
controle	20120119 MIN cha 7	3.300.000		aanwezig
controle	20120119 MIN cha 8	1.600.000		aanwezig
controle	20120119 MIN cha 9	2.300.000		aanwezig
controle	20120119 MIN cha 10	2.100.000		aanwezig
Champignonsubstraatproducent input-output				
	monsternr	ESBL kve/g	Ecoli kve/g	bloedplaat
input	20120119 MIN cha 11	3.500	>450.000	aanwezig
input	20120119 MIN cha 12	360	>450.000	aanwezig
input	20120119 MIN cha 13	2.300	>450.000	aanwezig
input	20120119 MIN cha 14	3.700	>450.000	aanwezig
input	20120119 MIN cha 15	440	>450.000	aanwezig
output	20120117 MIN cha 16	<10	<10	nvt
output	20120117 MIN cha 17	<10	<10	nvt
output	20120117 MIN cha 18	<10	<10	nvt
output	20120117 MIN cha 19	<10	<10	nvt
output	20120117 MIN cha 20	<10	<10	nvt
controle	20120119 MIN cha 21	<10	1400	nvt
controle	20120119 MIN cha 22	<10	1400	nvt
controle	20120119 MIN cha 23	<10	7300	nvt
controle	20120119 MIN cha 24	<10	140.000	nvt
controle	20120119 MIN cha 25	<10	2700	nvt

D. Co-vergistingsinstallatie

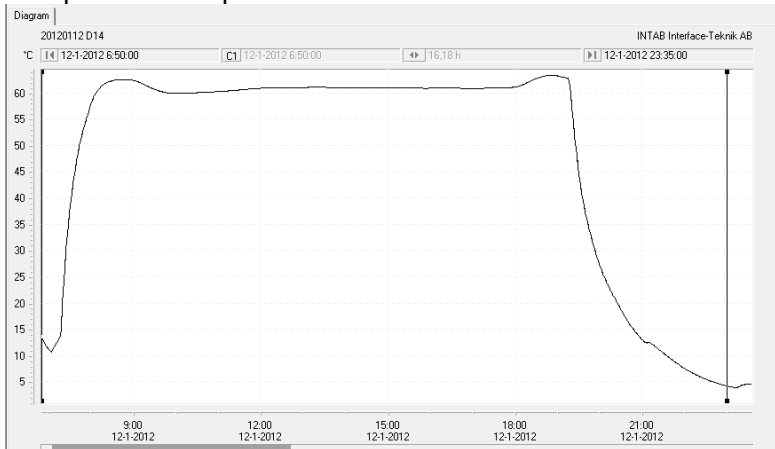
Co-vergister reductieonderzoek				
	monsternr	ESBL kve/g	Ecoli kve/g	bloedplaat
referentie	20120117 Min ver 1A	7,200,000		aanwezig
referentie	20120117 Min ver 2A	5.900.000		aanwezig
referentie	20120117 Min ver 3A	6.800.000		aanwezig
referentie	20120117 Min ver 4A	6.700.000		aanwezig
referentie	20120117 Min ver 5A	5.500.000		aanwezig
referentie	20120117 Min ver 6A	6.600.000		aanwezig
referentie	20120117 Min ver 7A	6.300.000		aanwezig
referentie	20120117 Min ver 8A	5.400.000		aanwezig
referentie	20120117 Min ver 9A	9.600.000		aanwezig
referentie	20120117 Min ver 10A	6.500.000		aanwezig
behandeld	20120117 MIN ver 1	2.900.000		aanwezig
behandeld	20120117 MIN ver 2	4.700		aanwezig
behandeld	20120117 MIN ver 3	<10		
behandeld	20120117 MIN ver 4	<10		
behandeld	20120117 MIN ver 5	<10		
behandeld	20120117 MIN ver 6	<10		
behandeld	20120117 MIN ver 7	<10		
behandeld	20120117 MIN ver 8	<10		
behandeld	20120117 MIN ver 9	<10		
behandeld	20120117 MIN ver 10	<10		
controle	20120117 Min ver 11	5.900.000		aanwezig
controle	20120117 Min ver 12	9,700,000		aanwezig
controle	20120117 Min ver 13	6,000,000		aanwezig
controle	20120117 Min ver 14	8,500.000		aanwezig
controle	20120117 Min ver 15	7,900.000		aanwezig
Co-vergister input-output				
	monsternr	ESBL kve/g	Ecoli kve/g	bloedplaat
input	20120127 MIN ver 16	<40***	80.000	aanwezig
input	20120127 MIN ver 17	<10	76.000	
input	20120127 MIN ver 18	<10	54.000	
input	20120127 MIN ver 19	<10	63.000	
input	20120127 MIN ver 20	<10	57.000	
output	20120210 MIN ver 21	<10	<10	
output	20120210 MIN ver 22	<10	<10	
output	20120210 MIN ver 23	<10	<10	
output	20120210 MIN ver 24	<10	<10	
output	20120210 MIN ver 25	<10	<10	
controle	20120127 MIN ver 26	<10	3.000	
controle	20120127 MIN ver 27	<10	2.200	
controle	20120127 MIN ver 28	<10	1.700	
controle	20120127 MIN ver 29	<10	2.800	
controle	20120127 MIN ver 30	<10	2.400	

*** = micro-organismen aanwezig per gram (1,2 of 3 kolonies op de laagste verdunning)

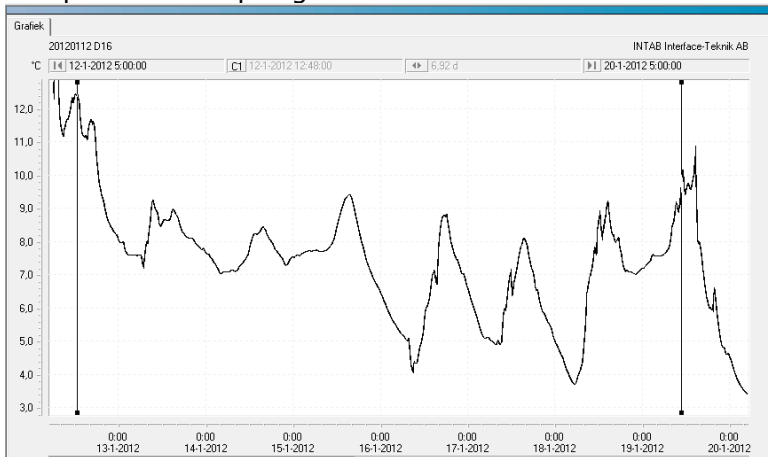
Bijlage 4: temperatuurgrafieken

A. Tunnelcompostering

Temperatuur in proces

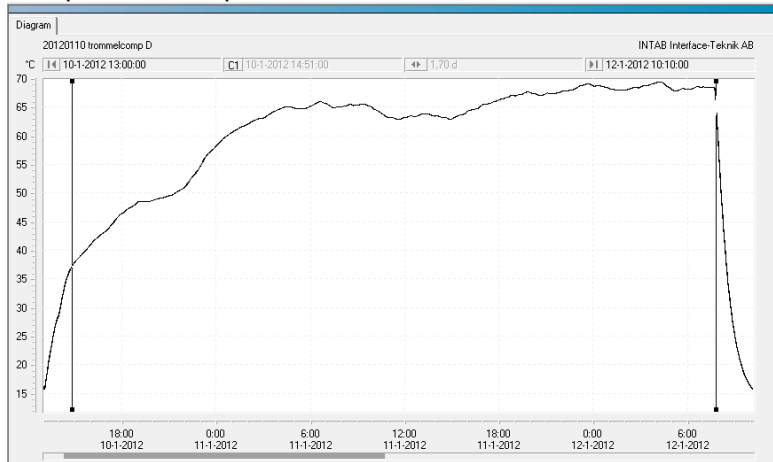


Temperatuur in opslaghal

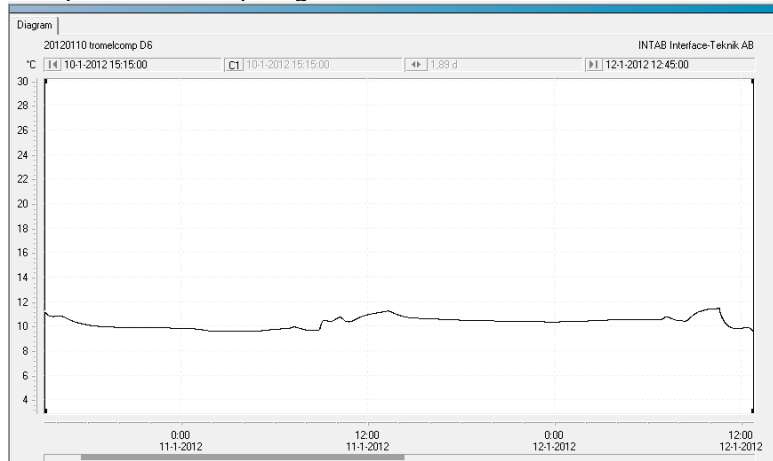


B. Trommelcompostering

Temperatuur in proces

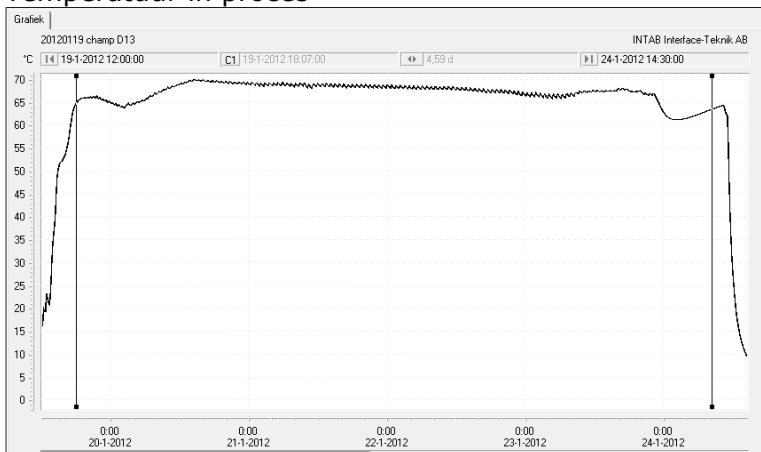


Temperatuur in opslaghal

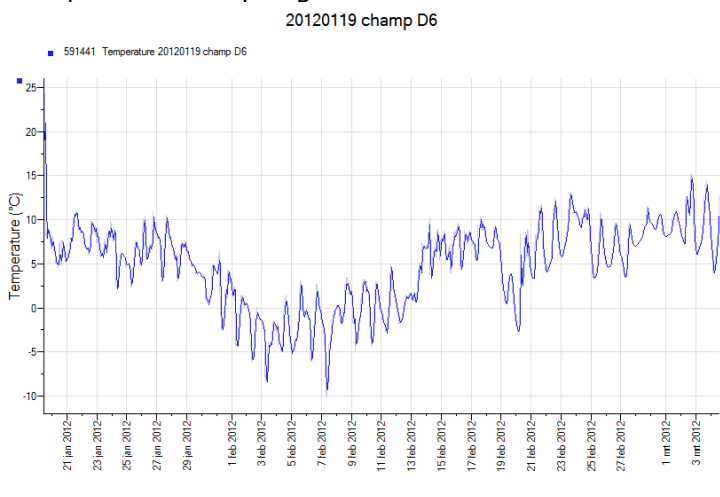


C. Champignonsubstraatproducent

Temperatuur in proces

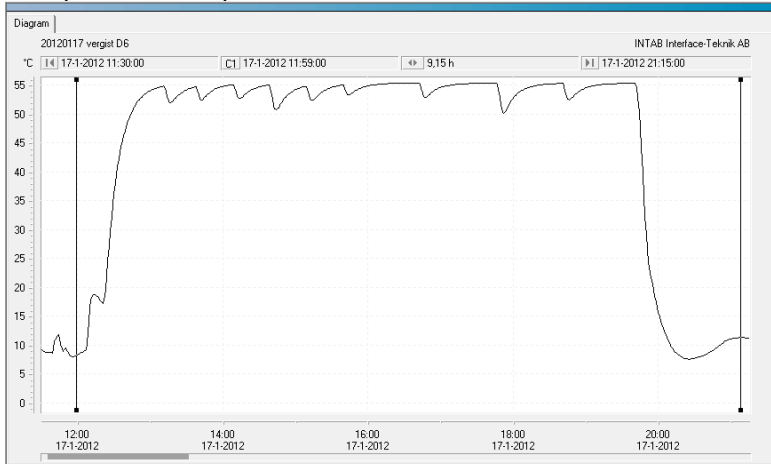


Temperatuur in opslaghal

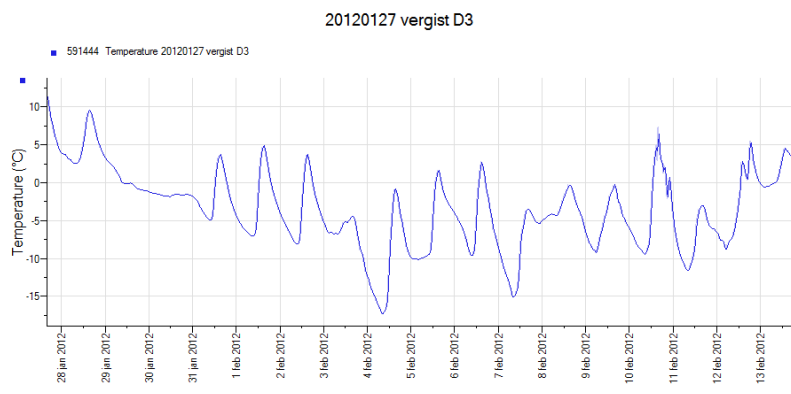


D. Co-vergistingsinstallatie

Temperatuur in proces



Temperatuur in opslaghal (input output)



Temperatuur in opslaghal (controle reductieonderzoek)

