

Foodborne disease risk assessment at Kamp Heumensoord



University of Utrecht -
Faculty of veterinary
Medicine

Aniek Lotterman BSc

Maj (R) Joris Wijnker DVM
PhD, Specialist RVAN
Veterinary Public Health,
IRAS - VPH

In collaboration with WO1
Eric de Haan, Royal
Netherlands Army

TABLE OF CONTENTS

Introduction	3
MATERIALS & METHODS	5
Kitchen Hygiene Assessment.....	5
Microbiological Risk Assessment.....	6
Results	10
Kitchen Hygiene Assessment.....	10
Microbiological Risk Assessment.....	11
Discussion	13
Conclusions	15
Recommendations.....	15
Acknowledgements	16
References	16
Appendix	19
I. Material & Method.....	20
a. Work instructions	20
b. Sampling Overview	23
c. Laboratory Test Procedures	25
II. Results	38
a. Lab results – agar dip slides.....	38
b. Lab results – swabs.....	39
c. Lab results – Food samples	41
III. Pictures	43
IV. Research proposal/ Onderzoeksvoorstel	46

INTRODUCTION

During the annual International Four Day Marches Nijmegen, the Royal Netherlands Army (RNLA) sets up Kamp Heumensoord to accommodate around 6000 participating military personnel with approximately 30 different nationalities. The RNLA's facilities' core focus is maintaining and supporting battle strength and to reduce the possible risk factors that might compromise this. The standard food safety manual applied at this location describes the HACCP-based system in place, implemented to reduce the risk of food- or waterborne illness to a minimum.

Kamp Heumensoord functions similar to a temporary base. It offers facilities such as housing, sanitation, food and medical care. From a (veterinary) public health perspective the food and water safety are interesting aspects and could pose mild to more serious threats to the health of the military personnel, thus compromising battle strength.

In general, when providing meals in a professional setting (such as a restaurant or a canteen) applicable legislation provides guidelines and requirements for the complete production process. From farm to fork, every step is closely monitored and each manufacturer in this production chain has to comply with these legislative requirements. The statutory provisions that apply here are laid down partially in the European General Food Law (Regulation (EC) No 178/2002) and Commission Regulation (EC) No 2073/2005 on microbiological criteria for foodstuffs. In addition at national level, these provisions are elaborated upon in the Dutch "Warenwet" (Ministry of Health, Welfare and Sport) and its subsequent regulations "Warenwetregeling Hygiëne van levensmiddelen" and the "Warenwetregeling Bereiding en behandeling van levensmiddelen".

When assessing any foodborne disease risk a wide range of risk factors have to be taken into account. Two of the most relevant questions are: 1) what foods are served? and 2) how are these foods prepared? Subsequently, one must clarify to whom these foods are served and if any of all people consuming the foods belong to a specific higher risk group, the so-called YOPI's (the Young, Old, Pregnant and Immuno-compromised).

Food is meant to strengthen the military personnel and improve their health. Military personnel is sometimes considered to represent the "s" in YOPI's, (the s for soldiers), for their immense physical performances which often take place under harsh circumstances that can negatively influence their susceptibility to pathogens (i.e. immuno-compromised) (23). Within this research the particular group of military personnel of interest are also considered YOPI's. They are living with 6.000 people in a relatively small space, with one central kitchen in a temporary setup, while performing at high physical levels in hot weather. Especially YOPI's are more prone to fall ill from taking in microbiologically contaminated food (20). The risk for YOPI's is higher due to increased severity of the disease. For instance a *Salmonella* infection or *E.coli* infection in healthy people is unwanted and unpleasant, but most of the time cause transient illness without long-term consequences. YOPI's that are infected with *Salmonella* can develop complications such as endocarditis, polyarthritis or osteomyelitis. In even more severe cases, circulating endotoxins can also cause dehydration, kidney failure and heart failure, possibly leading to death. An infection with *E.coli* could, for YOPI's, could lead to development of the Haemolytic Uremic syndrome (HUS), especially in the young and the old people. HUS gives an acute inflammation and failure of the kidneys and anaemia (18,19, 20), with a high risk of mortality.

The focus of risk management lies on prevention of incidents. Assumptions are made based on hazard identification and analysis and risk assessments. Combining these two aspects will ensure that the predicted risk is as closely linked to reality as possible. But one has to bear in mind that only a theoretical assessment without factual data could result in a predicted relative risk that has no direct links to the actual situation

anymore. Evidently these methods are needed to develop a food producing process. In order to assess the validity of the risk management tools and measures within this process a quantitative microbiological analysis is indicated. This should provide a truthful answer to the most relevant question of all: Not to what relative risks the military personnel were exposed but: What is the absolute risk and did they actually suffer from foodborne illnesses?

The most relevant aspects for an RNLA kitchen at a temporary base like Kamp Heumensoord are full awareness of potential risks and assuring they are under control. Can a temporary base like Kamp Heumensoord during Summer days (daily temperature over 25 °C) (24) guarantee and see to it that the soldiers stay healthy thanks to the food and not despite of it or worse, suffer from foodborne illness?

The purpose of this study is to assess the foodborne disease risk of all military personnel who use the RNLA's kitchen at Kamp Heumensoord during the International Four Day Marches Nijmegen 2013. This risk assessment was done by evaluation of HACCP-implementation, general hygiene and microbiological analysis of one of the meals served during the event.

MATERIALS & METHODS

In order to assess the food and water safety at Kamp Heumensoord during the International Four Day Marches Nijmegen 2013, several aspects of food preparation and distribution were investigated. After a brief introduction the separate evaluations and assessments will be discussed in more detail.

First an assessment of the Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP)-protocol was conducted based on inspection of the documents in place, which consisted of the basic document that lays out the principles and exact description for every food serving facility of the Royal Netherlands Army.

Secondly, the implementation of the HACCP-system at the International Four Day Marches Nijmegen 2013 was evaluated by inspection of, e.g., the location, environment, work materials, work methods, personnel, flow of goods, food storage and food preparation. This inspection was done on Tuesday, July 16th, the first marching day, as a sample survey.

Subsequently the efficacy of the cleaning procedures were evaluated by determining the hygiene status for the kitchen and food distributing point at the start of the evening meal, using swabs and agar dip slides. This was also conducted on the first day of the marches.

Furthermore the microbiological risk of the food served was assessed by sampling several components of the meal. This was performed on the same day of the inspection and the kitchen hygiene assessment. On this day, the military personnel was served a beef soup, a beef burger, potato croquettes, a wok mix, and a pre-packed mixed salad (Smeding Groenten en Fruit, Sint Annaparochie). For dessert they could choose from fresh whole fruits and pre-packed dairy-based desserts.

All the samples taken were stored in a cooling bag during transport and were placed at the VPH Laboratory in a controlled cooling unit at 4 °C, until processing. Except for the agar dip slides which were placed in a stove at 37 °C.

Finally, reports were taken into account from the inspections and alternative laboratory tests that were conducted by, respectively, the food quality and hygiene inspectors of the Ministry of Defence and Culivers (Eindhoven), where the served food was originally prepared. These inspection reports included reports from multiple visits to Kamp Heumensoord on different days and also from the Four Day Marches events in 2012 and 2011.

KITCHEN HYGIENE ASSESSMENT

The kitchen hygiene assessment was done according to the standard procedures used by the laboratory of the Division Veterinary Public Health, Institute of Risk Assessment Sciences in Utrecht (VPH Laboratory). Sampled items, surfaces and foods were chosen based on a risk analysis and inspection of the routing and usage of the materials and work surfaces in the kitchen and buffet. Sample size depended not necessarily on aimed statistical power, but was adjusted to manageable workload for laboratory analysis.

In order to score the kitchen hygiene samples from working and service surfaces were taken using agar dip slides (3M agar dip slides) and swabs (NRS transwab). The agar dip slides are two sided agar slides, one side with a Plate Count Agar (PCA) (yellow) to score total aerobic count and one side with VRBG agar (red) to score enterobacteriaceae count. These slides can be used to sample smooth, dry and clean surfaces by slightly pressing the agar for ten seconds on to the surface. After holding it steadily for ten seconds the dip slide is turned so the other side can be pressed on to the surface. In total ten surfaces were sampled. At the VPH Laboratory the dip slides were incubated at 37 °C for 36 hours and then scored. Scoring was conducted

following the standard VPH Laboratory procedures; for the enterobacteriaceae count a zero tolerance was applied.

For the aerobic counts the scoring was based on the following categorization (Table 1) (22):

Number of colonies Per slide*	Per cm ² **	Class	Score
< 3	<1	0	Excellent
3 till 9	1 till 2	1	Good
10 till 29	2 till 5	2	Poor
30 till 90	6 till 20	3	Unsatisfactory
> 90	> 20	4	Bad

* for the agar dip slides, ** for the swabs

TABLE 1 SCORING CATEGORIZATION AEROBIC COUNTS HYGIENE ASSESSEMENT

The swabs were dipped into the Neutralizing Rinse Solution (NRS) and then rolled in opposite direction of the sweeping three times one way and three times in perpendicular direction. The swab was then placed in the fluid holding casing and stored in the cooling unit overnight. In total ten swabs were taken. One swab was declared not usable for sampling due to a leaking storage container, leaving nine swabs for analysis at the VPH Laboratory. On day one at the VPH laboratory dilution series up to 10^{-4} were made and petrifilms (Aerobic Count Plates and Enterobacteriaceae Count Plates) were inoculated and then incubated respectively at 30 °C for 62 hours and at 37 °C for 24 hours before the plates were counted and scored (ISO 18593).

For both the agar dip slides and the swabs a zero tolerance for enterobacteriaceae count was applied. When cleaning protocols and procedures are carried out sufficiently, enterobacteriaceae are not to be found.

The elaborate and more precise work instructions for both the agar dip slides and the swabs are described in appendix I a 'Work Instructions'.

MICROBIOLOGICAL RISK ASSESSMENT

The microbiological risk assessment consists of two aspects. Firstly, the temperatures of the different foods were measured by using a core thermometer at the distributing point, i.e. the buffet, in order to evaluate the regenerating and food handling process. Secondly, food samples were taken for further analyses on foodborne pathogens at the VPH Laboratory, which procedures are in accordance with available ISO standards.

CORE TEMPERATURES

Temperatures were measured using a core thermometer (Hanna Instruments, checktemp-1 C, the Netherlands). The probe was held in the food product at the distributing point until the reading stabilized and core temperature was recorded. At two different buffets the soup, the wok mix and the beef burgers were measured one till three times (2).

FOOD SAMPLES

The samples were analysed at the VPH laboratory using standard procedures. A step-by-step description of these procedures is available in appendix I c 'Laboratory Test Procedures'.

Based on a risk analysis for the foods on the menu for Tuesday, July 16th, and acceptable Laboratory workload, a screening programme was drawn up (Table 2). Samples were taken from the Salad (n=4), the Wok mix (n=4) and the beef burger (n=4). The risk analysis was performed by desk-top research. First a list of pathogens with high number of reports per food component of the meal was drawn up. Second, a list of pathogens with highest incidence for foodborne illness in man was made. Then this prioritized list was combined with severity of the acquired disease. This led to a score per pathogen for all the different food components. Due to restricted capacity of the laboratory of choice, viruses were not included in the screening program. The final decision was made between the most relevant pathogens in general for this situation, i.e. regeneration, and workability was taken into account as well. A more elaborate report on this risk analysis is found in appendix I b 'Sampling Overview'.

	Salad	Wok mix	Beef burger
Aerobic count	✓	✓	✓
Enterobacteriaceae Count	✓	✓	✓
<i>Salmonella</i>	✓	✓	✓
<i>Campylobacter</i>		✓	✓
<i>E.coli O157</i>	✓	✓	✓
<i>Clostridium perfringens</i>	✓		
<i>Staphylococcus aureus</i> enterotoxins	✓	✓	✓
<i>Listeria monocytogenes</i>	✓	✓	

TABLE 2 SCREENING PROGRAM FOOD SAMPLES

For all the food samples 25 grams were weighed into a stomacher bag, supplemented with 225 mL buffered pepton water (BPW) creating a 10⁻¹ dilution. After mixing for 90 seconds in the stomacher this dilution was used for most of the subsequent testing.

AEROBIC COUNT

To score aerobic counts for the salads, wok mixes and beef burgers Aerobic Count Plates petrifilms were inoculated and incubated for 62 hours at 30 °C. Subsequently, plates were counted and results evaluated using official European standards (Commission Regulation (EC) No 2073/2005, on microbiological criteria for foodstuffs).

ENTEROBACTERIACEAE COUNT

To score enterobacteriaceae counts for the salads, wok mixes and beef burgers, Enterobacteriaceae Count Plates petrifilms were inoculated and incubated for 24 hours at 37 °C, with subsequent results compared to the same European standards as mentioned previously.

SALMONELLA

All the food samples were tested for *Salmonella*. The before mentioned BPW solution in the stomacher bags is incubated for 24 hours at 37 °C. The day after Rappaport-Vassiliadis (RV) enrichment broth tubes and Muller Kaufmann Tetrathionate Novobiocin MKTN enrichment broth tubes are incubated for 24 hours, placed in respectively a water bath and a 37 °C stove. On day three for both of the tubes a brilliant green Agar (BGA) growth plate as well as a xylose lysine deoxycholate agar (XLD) growth plate were inoculated. The growth plates were inspected for characteristic colonies after a 24 hour incubation period at 37 °C. When these characteristic colonies were found they were used to incubate a series of three test tubes together with a positive control sample. This series of tubes consists of a triple-sugar-ironagar (TSI) tube, a ureum agar tube

and a lysine-decarboxylase medium (LDC) tube. If the reactions in these three tubes were evidently the same for the samples as for the positive control they would be defined as “suspected of *Salmonella*”. Consequently, an agglutination test was performed. If the reactions in the three tubes was not evidently similar to the control tubes but also not clearly negative, a pure culture was made. This was done by incubating both the BGA growth plate as well as the XLD growth plate and testing was repeated from there according to the same procedures. In the end only a positive agglutination test from a pure culture would be qualified as *Salmonella* positive (ISO 6579). The decision making process is outlined in the decision tree shown in figure 1.

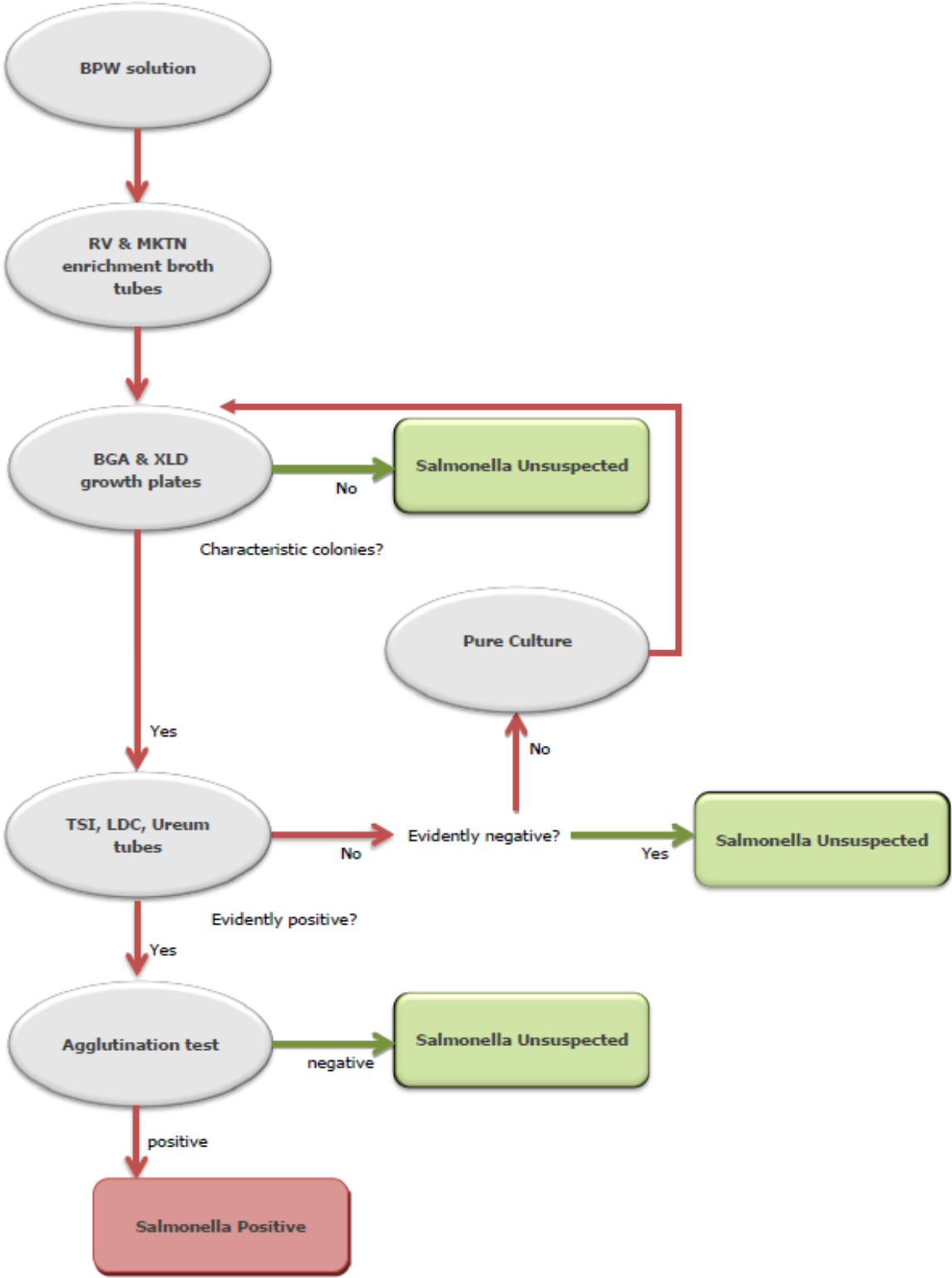


Figure 1 Decision tree for *Salmonella* testing

CAMPYLOBACTER

The wok mixes and beef burger samples were tested for *Campylobacter*. A cefoperazone charcoal deoxycholate broth (CCDB) tube were inoculated in a micro-aerobic environment in an anaerobic jar for 24 hours at 42 °C. Hereafter a cefoperazone charcoal deoxycholate agar (CCDA) plate was inoculated with this broth. The CCDA plates were again placed in anaerobic jars and incubated in a micro-aerobic environment for 48 hours at 37 °C. The CCDA plates were then inspected for specific colonies. If these specific colonies are found a hanging drop should be made where after an oxidase test and katalase test is performed. When these latter tests are both positive the sample will be qualified as *Campylobacter* positive (ISO 10272).

E.COLI O157

For all the food samples 25 grams were weighed into a stomacher bag, supplemented with 225 mL Modified Tryptone Soya Broth (MTSB) + novobiocine creating a 10^{-1} dilution. After mixing for 90 seconds in the stomacher, this dilution was incubated for 24 hours at 41 °C. At day two this dilution was transported into sterile tubes which were then heated in a 100°C water bath. Subsequently these tubes were brought back to room temperature by letting it rest outside the water bath. With help of the Transia card the samples are then tested for the presence of *E.coli* O157. Due to the test specifications any positive test would need further confirmation, for it might be a false positive outcome.

CLOSTRIDIUM PERFRINGENS

In order to test salad samples for contamination with *Clostridium perfringens* pour-plates have to be made. Into empty petri dishes 1 mL of either the 10^{-1} , 10^{-2} or 10^{-3} dilution was pipetted and *Clostridium perfringens* agar base with a TSC (Tryptose, Sulfite, D- Cycloserine) addition was added. The plates were then carefully swung, three times to the right, three times vertically and three times to the left to mix these two components together. After letting them rest to thicken, another layer of *Clostridium perfringens* agar base with a TSC addition was added. The thickened plates were thereafter incubated in an anaerobic environment for 24 hours at 37 °C. On day two these plates were inspected for classic black colonies, which, in case of appearance, would qualify the samples as positive for *Clostridium perfringens*.

STAPHYLOCOCCUS AUREUS ENTEROTOXINS

All the food samples were tested for presence of *Staphylococcus aureus* by inoculating *Staphylococcus* Express Count System (STX) petrifilms. After incubating the petrifilms for 24 hours at 37 °C they were inspected for red violet colonies. Counting the number of colonies on this petrifilm would lead to a colony forming units (cfu) value per gram product. When *Staphylococcus aureus* is present in food in higher numbers than 10^5 cfu per gram, sufficient amounts of enterotoxins are produced to cause a food intoxication (15, 22).

LISTERIA MONOCYTOGENES

For both the salad samples and the wok mix samples a *Listeria* Selective Enrichment Broth (UVM) tube was inoculated and incubated at 30 °C for 24 hours. On day two this broth was used to inoculate a Fraser tube which was then incubated for 24 hours at 37 °C. On day three the tubes that had acquired a black colouring were used to inoculate *Listeria* growth plates which were then placed in a 37 °C stove for 24 hours. The *Listeria* growth plates were inspected for characteristic colonies on day three. When there would be any hesitance is a found colony was characteristic for *Listeria* this colony would be made into a pure culture. Finding characteristic colonies would qualify the sample as *Listeria* positive (ISO 11290).

RESULTS

KITCHEN HYGIENE ASSESSMENT

The hygiene assessment shows that half of the sampled surfaces score excellent or good. The other half score less good, i.e. poor, unsatisfactory or bad. Another remarkable feature is that the majority of the samples score either excellent (swabs) or the exact opposite, bad (Dip slides) (Figure 2). The surfaces are, with one exception, free from enterobacteriaceae.

The complete and detailed results overviews are found in appendices II a 'Lab results – Agar Dip slides' and b 'Lab results – Swabs'.

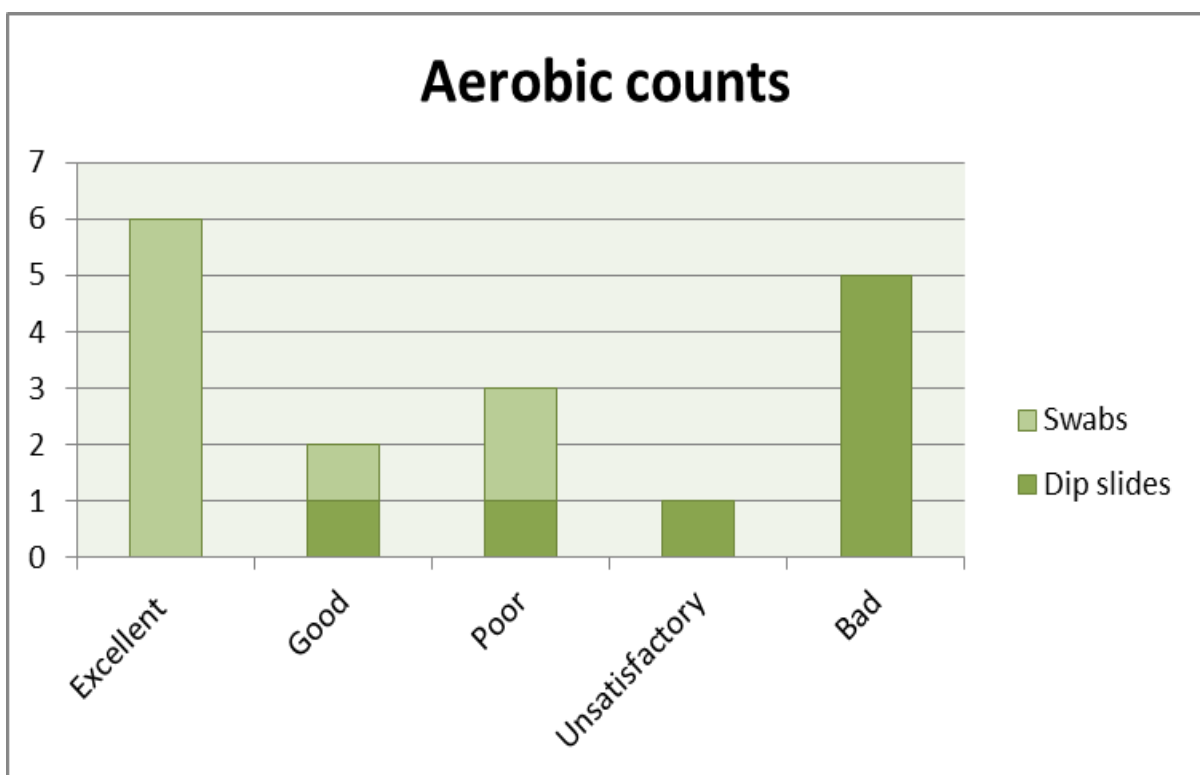


Figure 2 The scores for the aerobic counts of the agar dip slides and swabs

MICROBIOLOGICAL RISK ASSESSMENT

The results from the microbiological risk assessment are summarized below. The complete and detailed results overviews are found in appendix II c 'Lab results – Food Samples'.

CORE TEMPERATURES

The regenerating process was assessed by measurement of the core temperatures of the meal components. Results are listed below in table 3.

Food	Buffet	Temperature °C	Norm temperature °C (2)*
Wok mix	2	74,2-75,4	80
Wok mix	3	71-78,4	80
Beef soup	2	74,9	80
Beef soup	3	87	80
Beef burger	2	50,4-71,5	80
Beef burger	3	60,8-69,9	80

*at end of heating process. Within 1 hour heating up till 60 °C, further heating up till 80 °C (2).

TABLE 3 RESULTS CORE TEMPERATURE MEASUREMENTS

FOOD SAMPLES

For the microbiological analysis of the food samples results are shown below (Table 4, 5 & 6).

SALAD

In the salad samples there were no maximum tolerable levels exceeded and no specific foodborne pathogens found (Table 4). The aerobic counts and enterobacterial counts all stayed within level of acceptance according European legislation (15, 16).

Salad	Maximum tolerable levels	
Aerobic count	2,86-3,96*10 ⁷	<10 ⁷ cfu/gr
Enterobacteriaceae	5,06-8,80*10 ⁵	<10 ⁶ cfu/gr
<i>Salmonella</i>	Not found	Absent in 25 gr
<i>E.coli</i> O157	Not found	<10 ³ cfu/gr
<i>Clostridium perfringens</i>	Not found	10 ⁵ cfu/gr
<i>Staphylococcus aureus</i> enterotoxins	Not found	<500 cfu/gr
<i>Listeria monocytogenes</i>	Not found	<10 ² cfu/gr

TABLE 4 RESULTS MICROBIOLOGICAL ASSESSMENT SALADS

WOKMIX

In the wokmix samples there were no maximum tolerable levels exceeded and no specific foodborne pathogens found (Table 5).

Wok mix	
Aerobic count	0
Enterobacteriaceae	0
<i>Salmonella</i>	Not found
<i>Campylobacter</i>	Not found
<i>E.coli</i> O157	Not found
<i>Listeria monocytogenes</i>	Not found

TABLE 5 RESULTS MICROBIOLOGICAL ASSESSMENT WOK MIXES

BEEF BURGER

In the beef burger samples there were no maximum tolerable levels exceeded and no specific foodborne pathogens found (Table 6).

Beef burger	
Aerobic count	0
Enterobacteriaceae	0
<i>Salmonella</i>	Not found
<i>Campylobacter</i>	Not found
<i>E.coli</i> O157	Not found
<i>Listeria monocytogenes</i>	Not found

TABLE 6 RESULTS MICROBIOLOGICAL ASSESSMENT BEEF BURGERS

DISCUSSION

Interpretation of the results requires consideration of the following accompanying information: the review of the HACCP-protocol from the RNLA i.e. the food safety manual, the inspections at Culivers and Kamp Heumensoord and the reports from the inspections conducted by the food quality and hygiene inspectors of the Dutch Ministry of Defence. Besides inspections, measurements and sample taking were only performed on one day for one meal. Though the research in itself leads to quantitative results, it remains a sample survey where statistical power is debatable. Also the sampling plan is adjusted to logistical and practical considerations to obtain a workable plan besides scientific grounds. Any results derived and conclusions drawn from this research can be considered indicative for the International Four Day Marches Nijmegen. They cannot be interpreted as definitive since the research was limited to the evening meal of Tuesday 16th 2013.

Starting with the inspections there are some risk factors identified that could pose a threat to the microbial safety of the food thus possible impairment of the person's health.

Temporary employees recruited by the employment agency (Tempo Team) were not all fully aware of their responsibility towards food hygiene and more specific, food safety. Experience was not required and training was sparse. They were given instructions in writing from the employment agency and before the work shift started they were quickly briefed by the head of the kitchen from Paresto. During the work there was Paresto staff to oversee the whole process and support, guide and correct the temporary employees. This could not prevent the following behaviour to occur; jewellery such as rings, necklaces and earrings were not all removed, touching with gloved hands while standing at the buffet serving food of the face, hair and clothing, leaving the serving tray opened when there was no queue waiting to be served. This could in case of a possible contamination easily result in a fast spread of the agent and increase the risk of a foodborne illness (15) .

Furthermore, the garbage disposal was placed quite near to the kitchen and already on the second day of the marches a bad stench arose from it. Relocation was considered but no better suitable alternative was found.

Moreover, laboratory results from the kitchen hygiene samples showed that the environment at the start of the regenerating process was not as clean as could be expected. For the swabs it has to be considered that the aerobic counts were mostly estimates since there were only 1 or 2 colonies to be found on the petrifilm. Every number of colonies below 7 on a petrifilm is considered to be an estimate of lower than 7 and not reliable as an absolute value (22). This higher chance of coincidence with low counts is supported by our findings that for some samples 1 colony was found on the petrifilm from the 0 dilution, no colonies were found in the -1 dilution but then in the -2 dilution again, 1 colony was found. Not all samples were qualified as poor or bad, indicating that the cleaning procedure in itself is adequate. An incomplete execution however could account for the sampled places that scored badly. At the start of any cooking process, regenerating process and serving the environment should and could be clean.

The microbiological assessment was performed without screening for viral pathogens, such as norovirus, which are very frequent causes of foodborne disease (20).

Also, the microbiological assessment showed for the core temperatures several temperature measurements were below the standards laid down in the RNLA's food safety manual. However these standards are described as standards for temperature after heating. The temperature in this study was measured at serving at some time after direct heating. It cannot be concluded that prescribed temperatures were not reached, nor can it be confirmed. Though these measurements are inconclusive there are arguments to assume that the heating process was satisfactorily performed. For instance the microbiological analysis conducted by Culivers before transport to and delivery at Kamp Heumensoord showed higher aerobic counts and enterobacterial counts

than the samples taken during serving. Where Culivers found counts, which were still within the European safety margins, we did not count any, thus supporting the presumption of good heating process at Kamp Heumensoord. Though there is an estimated low microbiological risk there are also arguments for better heating of the meal components. First of all the served meal was almost cold by the time you sat down at the table to eat, negatively influencing taste perception. It is possible that later on during dinner this issue was solved by a shorter runtime due to higher number of incoming military personnel.

Additionally the microbiological assessment for the wok mix and the beef burgers showed no violation of the standards set in the European food law regulations. Also no specific food pathogens could be isolated from these samples.

The microbiological assessment of the samples taken from the pre-packed salads deserve more elaborate discussion. The role of fresh products, such as salad, in foodborne disease outbreaks has increasingly been investigated over the past years. *Salmonella* and *E.coli* O157 are strongly associated with produce-related outbreaks (7). We found aerobic counts that exceeded the upper limit while enterobacterial counts remained within the accepted margins. The aerobic counts were exceeded, slightly, but evidently. The enterobacterial counts make up 1,4 till 2,2 % of the aerobic counts which can be considered very small. The vast majority of the aerobic count can be attributed to other types of bacteria than enterobacteriaceae. Which agent or agents were responsible for these high aerobic counts cannot be concluded from this research since the tests for the specific pathogens relevant for salads (*Salmonella*, *E.coli* O157, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*) all turned out negative, as these pathogens were not found in the samples. The increased aerobic counts could be due to bacterial growth during serving since the salads were not kept under cooled conditions at the buffet while the meal was served.

Overall, the overall foodborne disease risk for the military personnel was limited as there were no high-risk pathogens found in any of the foodstuffs served on that particular day and meal and there was no record from the Kamp's hospital of any food related illness. Relatively few military personnel treated at the Kamp's hospital came in with complaints related to the digestive system. Considering military personnel as YOPI's one would expect that if there was serious foodborne health risk, it would not have passed unnoticed.

CONCLUSIONS

Overall performance of the kitchen and the restaurant at Kamp Heumensoord at the International Four Day Marches Nijmegen 2013 can be considered sufficient, especially considering the dry, warm and dusty environmental circumstances. With few exceptions the kitchen and the restaurant are clean indicating that de cleaning protocol in place is valid but leaving some room for improvement for the execution of the cleaning protocol. Furthermore results show that the food served and tested on the second day of the marches was safe for consumption, although the salad might become a critical item when not properly cooled during storage and serving.

The overall foodborne disease risk at the time of sampling at Kamp Heumensoord can be considered at an acceptable low level.

RECOMMENDATIONS

At the time of inspection the garbage disposal was not fully closed off. Since a considerable amount of garbage is accumulated at this garbage disposal it could be beneficial to make more use of smaller containers, keeping the large garbage disposal closed until the smaller containers are emptied in the garbage disposal.

Cleaning protocols are to be followed more precise. These cleaning procedures can be checked relatively easy by using agar dip slides. One would only need a 37 °C stove. Besides agar dip slides, ATP measurements (Bioluminescence, BioControl Systems) could be used to perform a hygiene check right after cleaning (5). With these methods it will be possible to put in place corrective measures right away or after a day or two. Although there was no indication of military personnel falling ill due to the food served in the restaurant, insufficient hygiene remains a risk for contamination of the meals. In addition, more attention should be paid to the (temporary) employees in the kitchen and at the buffets in regards to the absence of all jewellery and correct use of hairnets and gloves. The employees could be screened on forehand according to the catering industry's standard program and be trained, instructed or corrected more and better.

It can also be recommended that the salads are kept cool during serving at the buffets. Due to the warm weather conditions during the International Four Day Marches Nijmegen the salads may increase rapidly, enabling bacterial growth. Alongside proper cooling, sufficient heating of the warm components of the meal is advised. Not only to reduce the chance of survival for pathogens but also for the taste perception.

ACKNOWLEDGEMENTS

Words of appreciation are in order to the people that have helped make this research possible. First of all WO1 Eric de Haan for this research project would not have been possible without his efforts to get our research proposal approved by the RNLA. Furthermore Eric has been a great support during the preparation and the execution of this project.

Secondly, the food quality and hygiene inspectors from the ministry of Defence, Aad Struijk and Philip de Rooij, are thanked for their willingness to share information, cooperation and their time and effort to inspect the food processing sites.

Furthermore the laboratory staff at the Division Veterinary Public Health and in particular Ali Eggenkamp and Angèle Timan for all of their advice and assistance with the lab work.

Others, in no particular order: Cpt Nico Bobeldijk and Lt Col Jacques Wennekes MD, Hans Kool (Paresto), mr. Joop van der Aa and ms. Bianca Vis (Culivers), dr. Len Lipman and Tineke Kramer from the IRAS Division Veterinary Public Health. Thank you for your help and support.

Last but definitely not least Maj (R) veterinarian dr. Joris Wijnker for his time and effort guiding me, for his expertise and his thoughts, for his honest opinions and constructive feedback. Many thanks.

REFERENCES

RNLA:

1. HANDBOEK VOEDSELVEILIGHEID DEFENSIE, Versie 1, 23 mei 2012, Werkgroep Voedselveiligheid.
2. HVD, RF 0072 regenereren, 23-05-12, versie 01.
3. Vierdaagse Nijmegen 2013, Draaiboek Defensie.
4. Indeling productcategorieën - Hygiëncode voor zorginstellingen en Defensie, versie oktober 2008.
5. RICHTWAARDEN REINIGINGS- EN DESINFECTIEPROCES DEFENSIE.

Articles:

6. Brock, W.J., Rodricks, J.V., Rulis, A., Dellarco, V.L., Gray, G.M., Lane, R.W., 2003. SYMPOSIUM Food Safety: Risk Assessment Methodology and Decision-Making Criteria. *International Journal of Toxicology* 22, 435-451.
7. Franz, E., 2007. Ecology and Risk Assessment of *E. coli* O157:H7 and *Salmonella* Typhimurium in the Primary Production of Lettuce.
8. Gonzales-Barron, U., Butler, F., 2011. The use of meta-analytical tools in risk assessment for food safety, *Food Microbiology* 28, 823-827.
9. Havelaar, A.H., Nauta M.J., Jansen, J.T., 2003. Fine-tuning Food Safety Objectives and risk assessment. *International Journal of Food Microbiology* 93, 11-29.
10. Lammerding, A.M., Fazil, A., 2000. Hazard identification and exposure assessment for microbial food safety risk assessment. *International Journal of Food Microbiology* 58, 147-157.
11. Ross, T., Sumner, J., 2002. A simple, spreadsheet-based, food safety risk assessment tool. *International Journal of Food Microbiology* 77, 39-53.
12. Van Gerwen, S.J.C., te Griffel, M.C., van 't riet, K., Beumer, R.R., Zwietering, M.H., 2000. Stepwise quantitative risk assessment as a tool for characterization of microbiological food safety. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 938-951.

Reports:

13. RIVM report 734301022/2003, Quantifying public health risks. drinking water, A burden of disease approach.
14. Report of a Joint FAO/WHO Consultation, Kiel 2002, Principles and guidelines for incorporating microbiological risk assessment in the development of food safety standards, guidelines and related texts.

Official documents:

15. European Commission, 2005. Commission regulation (EC) No 2073 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs. European Commission, Brussels.
16. European Commission, 2002. Regulation (EC) No 178/2002 of the European Parliament and of the Council of 28 January 2002 laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in matter of food safety. European Commission, Brussels.
17. ISO 22000.

Books:

18. International Commission on Microbiological specifications for foods, 2002. *Microorganisms in Foods 7: Microbiological Testing in Food Safety Management*. Kluwer Academic/ Plenum Publishers, New York. [\[LINK\]](#)

19. Dossier voedselveiligheid 2012, zevende ed., Stichting Food Micro & Innovation.
20. Lipman, L.J.A., Ruiter, A., 2006. Inleiding tot de Levensmiddelenhygiëne – Achtergronden en feiten, Elsevier Gezondheidszorg, Maarssen.
21. Riemann, H.P., Cliver, D.O., 2006. Foodborne infections and intoxications, third ed. Elsevier Academic Press, Amsterdam.

Experts:

22. Dr. Ali Eggenkamp and Angèle Timan/ Laboratory procedures, VPH Laboratory, IRAS, Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University
23. WO1 Eric de Haan, Section Health Care, LOSC, Royal Netherlands Army

Websites:

24. knmi.nl/klimatologie

- I. Material & Method
 - a. Work instructions
 - b. Sampling overview
 - c. Laboratory test procedures
- II. Results
 - a. Lab results – agar dip slides
 - b. Lab results – swabs
 - c. Lab results – Food samples
- III. Pictures
- IV. Research proposal/ Onderzoeksvoorstel

I. MATERIAL & METHOD

a. WORK INSTRUCTIONS

Hygiëne

Op basis van documenten van het VPH laboratorium van het IRAS

Methode 1: Agardiplides

Inleiding

Het principe van deze methode bestaat uit het in contact brengen van een voedingsbodem met het te bemonsteren oppervlak, waarbij micro-organismen van dit oppervlak op de voedingsbodem overgaan. Afhankelijk van de aard en de gesteldheid van het te bemonsteren oppervlak worden meer of minder van de aanwezige micro-organismen op de voedingsbodem meegenomen. In de praktijk wordt deze methode alleen toegepast om het effect te meten van reiniging en desinfectie.

Voor het gieten van de plaatjes wordt een stevige (3-4%) agarvoedingsbodem gebruikt, waarvan zóveel in het schaalpje wordt gegoten, dat het oppervlak iets bol staat. Dit is noodzakelijk om het gehele oppervlak tegen het te bemonsteren object aan te kunnen drukken.

Uitvoering

Er worden 2 soorten agarcontactplaatjes gebruikt:

- Met PCA (geel) voor het aerobe kiemgetal
- Met VRBG (rood) voor het bepalen van Enterobacteriaceae

Bij bemonstering van een, schoon en droog oppervlak wordt het dekseltje afgenomen en het agaroppervlak zachtjes, tegen het object gedrukt±10 sec. (NIET DRAAIEN!).

Bij het bebroeden gedurende 1 dag bij 37°C worden de schaalpjes omgekeerd

(deksel beneden) in de broedstoof geplaatst.

Beoordeling

Beoordeling – VRBG platen: Na goede reiniging en desinfectie horen er geen Enterobacteriaceae te groeien.

Beoordeling - PCA platen: De beoordeling van de PCA agarcontactplaatjes vindt als volgt plaats

Beoordeling per afdruk

<u>Aantal kolonies</u>	<u>Klasse</u>	<u>Kwalificatie</u>
<3 kolonies	0	Uitstekend
3-9 kolonies	1	Goed
10-29 kolonies	2	Matig
30-90	3	Onvoldoende
>90 kolonies	4	slecht

Methode 2: Swabmethode

Inleiding

Indien oppervlakken zwaar besmet zijn, heeft controle middels agarcontactplaatjes geen zin, omdat men dan na bebroeding een dusdanig plaatselijke opeenhoping van kolonies kan krijgen, dat een juiste beoordeling onmogelijk wordt. In dat geval kan men de swabmethode gebruiken. Ook voor moeilijk bereikbare oppervlakken (bijv. binnenkant van buizen) is deze methode geschikt.

Uitvoering

Bevochtig een alginaatswab met steriele fysiologische NaCl-oplossing. Druk de swab stevig tegen het te onderzoeken oppervlak en wrijf 3 keer in twee loodrecht op elkaar staande richtingen over het te onderzoeken gebied. Maak hierbij rollende bewegingen tegen de richting van het wassen in. Breng de swabs in 10 ml oplosvloeistof (steriele calgon). Indien als drager breekbare stokjes worden gebruikt kunnen deze juist boven de prop afgebroken worden, hetgeen het in oplossing brengen vergemakkelijkt.

Schud de swab goed in het oplosmedium. Bereid decimale verdunningen en zet van de gewenste verdunningen kolonietellingen in (op petrifilm totaal kiemgetal en Enterobacteriaceae). Bereken het aantal kve na aflezing van de bebroede platen per cm^2 oppervlakte.

Na twee dagen bij 30°C voor het totaal kiemgetal en 1 dag 37°C voor Enterobacteriaceae. Noteer het bemonsterde aantal cm^2 .

Microbiologische analyse

Het nemen van voedingsmonsters

Monstername

Kledingvoorschriften:

- Haarnetje
- Plastic overschoenen
- Witte jas
- Handschoenen
- Geen sierraden

Werkwijze:

- Was vooraf je handen
- Doe handschoenen aan
- Gebruik de steriele lepels om het voedsel in de bakjes te scheppen. Laat iemand je de materialen steriel aangeven. Raak met je handen het voedsel niet aan. Schep het bakje tot de rand toe vol.
- Plaats het monsterbakje direct in de koelbox.

Pak een nieuwe lepel en neem het volgende monster.

Bereiding

Temperatuurmeting

op basis van documenten van Defensie (operationeel voedselveiligheidsplan)

- Voor het meten van de producttemperatuur dient de voeler-pen gedesinfecteerd te worden met een desinfectiedoekje (70% alcohol). Let op dat de doekjes niet uitgedroogd zijn, dan functioneren ze niet meer.
- Zorg ervoor dat de gebruikte desinfectiedoekjes worden weggegooid in een afvalzak en niet gaan rondzwerven.
- Druk de voeler-pen tot in de kern van het product. Zorg hierbij dat de voeler minmaal 2,5 cm in het product steekt. Bij diepgevroren producten kan men de temperatuur meten door de voelerven tussen de producten te plaatsen. Let op dat de voeler-pen niet beschadigd raakt door de voeler-pen als mes/inprik-gereedschap te gebruiken.
- De temperatuur aflezen op het moment dat de op het scherm aangegeven temperatuur niet meer verandert.
- Na elke productmeting de voeler-pen weer schoonmaken en desinfecteren, voordat men weer een ander product gaat meten.
- Controleer minimaal eenmaal per maand de werking van de kerntemperatuurmeter.
- De kerntemperatuurmeter moet jaarlijks gekalibreerd worden.

b. SAMPLING OVERVIEW

Monsterplan

Dinsdag 16 juni Kamp Heumensoord

Dit plan is tot stand gekomen op basis van literatuuronderzoek en overleg met specialisten van het microbiologisch laboratorium van de afdeling IRAS-VPH van de Faculteit Diergeneeskunde. De verslaglegging van deze onderbouwing zal in uitgebreide vorm nog volgen.

Meegewogen argumenten:

- Literatuur; welke voedingsmiddelen vormen een risico betreffende welke agentia?
- Praktisch; toegangstijden laboratorium, verwerking door 1 persoon, mogelijkheden laboratorium, sensitiviteit tests, etc.

Monsters:

- Afdrukplaatjes
 - N = 10
 - Bestek, bestekbak, borden, kookgerei, werkbladen etc
 - Exacte plaatsen nog te bepalen obv eerste inspectie 27 juni
- Swabs
 - N = 10
 - Wasbak, kraan, werkblad groeven en kieren, snijplanken, etc
 - Exacte plaatsen nog te bepalen obv eerste inspectie 27 juni
- Voedingsmiddelen
 - Salade, wokmix, rundvleesburger, (aardappelnoisettes).

Voorstel bemonstering voedingsmiddelen

Voedingsmiddel	Aantal monsters	Extra controle	Tests / Agentia						
			Totaal kiemgetal	<i>Salmonella</i>	<i>Campylobacter</i>	VTEC	<i>Clostridium</i> **	<i>Staph. Aureus</i>	<i>Listeria</i>
Salade	3		X	X		X	X	X	X
Wokmix	2 koud 2 warm ****	Temperatuur bij uitserveren	X	X	X	X			
Rundvleessoep	3 koude monsters *** 1 boven, 1 midden, 1 onder	Temperatuur bij uitserveren	X	X	X	X			
Rundvleesburger	1 koud 2 warm ***	Temperatuur bij uitserveren	X	X	X	X			
Evt. Aardappelnoisettes*									

* Vanaf gezien o.b.v. overleg met dhr. L. Lipman (IRAS-VPH)

** Afhankelijk van nodige testmethoden; beschikking over specifieke *Clostridium* platen of meer bewerkelijke testmethoden.

*** Vanwege praktische overwegingen aangaande monstermateriaal eigenschappen (te lage hittebestendigheid), ter volledigheid riskassessment daarom temperatuur meten.

**** Monsters warme voedingsmiddelen bemonsteren vlak voor uitgifte.

Er zal slechts één monsternoment zijn. Er zal uitgevraagd, en in de HACCP-documentatie moeten worden gecontroleerd hoe er omgegaan wordt met langer staand en overgebleven eten.

Achtergrond

Menu

16 juli 2013	5200 personen	320 personen	5200 personen	
	02:30-08:00 uur	12:00-13:00 uur	16:30-19.00 uur	
	Muesli yoghurt	Franse waterkerssoep	Argentijnse rundvlessoep	200 ml
	Caprisun	Mini pizza Margherita	Hamburger (rond)	125 gr bereid
		Rauwkostsalade	Aardappelnoisettes	275 gr bereid
			Wokmix	250 gr bereid
			Zigeunersaus	80 gr
			Rauwkostsalade	100 gr
			Dessert	150 ml
			Fruit assortiment	

Inventarisatie relevante agentia

Op basis van

1. Lipman, L.J.A., Ruiter, A., 2006. *Inleiding tot de Levensmiddelenhygiëne – Achtergronden en feiten*, Elsevier Gezondheidszorg, Maarssen.
2. Riemann, H.P., Cliver, D.O., 2006. *Foodborne infections and intoxications, third ed.* Elsevier Academic Press, Amsterdam.
3. VION gevarenlijst

Op volgorde van risicogrootte (incidence x severity)

Ready to eat products (salade, toetjes):

Norovirus*, *Listeria*, *Cl. Perfringens*, *Staphylococcus aureus* enterotoxinen, *Salmonella*, *E. coli* O157

Composed products (soep, burger-rund, aardappelnoisettes):

Norovirus*, *Campylobacter*, *E. coli* O157, *B. cereus*, *Cl. perfringens*, *Staphylococcus aureus* enterotoxinen, *Yersinia enterocolitica*

Vegetable/fruit (wokmix, fruitassortiment):

Norovirus*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Cl. Perfringens*, *B.cereus*, *Staphylococcus aureus* enterotoxinen, *E. coli* O157

*Het voedsel is slechts het transportmedium te noemen voor het norovirus en besmetting en verspreiding ervan zijn niet zozeer geassocieerd met een bepaalde groep voedingsmiddelen, maar meer met keukenhygiëne. Het is een van de belangrijkste veroorzakers van voedselgerelateerde ziekte.

Te onderzoeken monsters en relevante agentia, genummerd naar risicogrootte.

		<i>Salmonella</i>	<i>Campylobacter</i>	VTEC	<i>Cl. perfringens</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus enterotox.</i>	<i>Yersinia-enterocolitica</i>	<i>Listeria</i> ²	Norovirus ¹
Readytoeat	Salade	5		6	3		4		2	1
	Toetje	5		6	3		4		2	1
	Zigeunersaus									1
Composed products	Soep		2	3	5	4	6	7		1
	Runvleesburger		2	3	5	4	6	7		1
	Aardappelnoisettes		2	3	5	4	6	7		1
Groente/Fruit	Wokmix	2	3	7	4	5	6			1
	Fruitassortiment	2	3	7	4	5	6			1

Scoring obv relevantie; 1= meest relevant.

¹ Virussen kunnen niet onderzocht worden in het microbiologisch laboratorium van IRAS-VPH en wordt daarom niet meegenomen in dit onderzoek. Daarbij hangt besmetting van voedingsmiddelen met norovirus nauw samen algemene hygiëne maatregelen welke gecontroleerd worden middels inspecties en assessments van de HACCP-systemen van de betrokken producenten/leveranciers.

² *Yersinia* is erg lastig op te kweken en valt buiten de kern van belangrijkste agentia en valt daarom buiten de focus van dit onderzoek

Algemene richtlijnen voor microbiologisch onderzoek

Algemene voorschriften voor de voorbehandeling van monsters en uitplaten

Om een schatting te kunnen maken van het aantal bacteriën in een voedingsmiddel (bijv. gehakt, melk) of op een oppervlak, worden kolonietellingen uitgevoerd. Dit is een veelgebruikte techniek in de voedingsmiddelenmicrobiologie. Het principe berust op het opbrengen van (extracten van) monsters op selectieve agarplaten en het tellen van de kolonies die op de platen groeien.

Vloeibare materialen (melk, water, vleessap, etc.) kunnen direct worden uitgeplaat (respectievelijk verdund, zie beneden). Vaste materialen (vlees, vleeswaren, etc.) moeten eerst worden gesuspenseerd in vloeistof (BPW). Mede omdat de verdeling van de micro-organismen in het materiaal praktisch nooit homogeen is, wordt hiervoor als regel een representatief monster van 25 g genomen dat - zonedig na voorverkleining - met 225 ml BPW in een stomacher zakje wordt gehomogeniseerd. De zo verkregen suspensie wordt de 10^{-1} verdunning genoemd, dat wil zeggen iedere ml bevat 0,1 g materiaal¹. In de handleiding wordt dat bij "*Salmonella*" (pagina 23) beschreven.

Monsters kunnen extreem sterk uiteenlopende aantallen bacteriën bevatten. Teneinde 'telbare' platen, dat wil zeggen tussen 25 en 250 kolonies (petrifilm) of 20-200 kolonies (strijkplaten) per plaat, te verkrijgen, moeten de monsters vaak nog verder verdund worden. Daarvoor worden decimale verdunningsreeksen gemaakt en van drie opeenvolgende verdunningen platen ingezet. Welke verdunningen dat zijn hangt af van de te verwachten of geschatte totale aantallen micro-organismen in of op het te onderzoeken materiaal.

Voor sommige bepalingen is het nodig de monsters eerst 'op te hopen': door het gehomogeniseerde monster onverdund bij 37 graden (meestal overnacht) te bebroeden, kunnen zelfs weinig bacteriën in het monster aangetoond worden, omdat deze de kans krijgen tijdens de ophoping uit te groeien.

Decimale verdunningen worden als regel bereid met Pepton-Fysiologische Zoutoplossing (PFZ) door 1 ml uitgangsvloeistof te mengen met 9 ml steriele PFZ.

Gebruik bij het maken van decimale verdunningen en beënting van media steeds een nieuwe pipet, en mix de buizen goed alvorens er iets uit te halen. De door de VPH gebruikte pipetten zijn plastic 1 ml. pipetten voor eenmalig gebruik.

Merk platen in verband met een goede telbaarheid van de te ontwikkelen kolonies op de deksel en niet op de bodem. En op de petrifilm op de bovenste film boven of onderaan op de rand. Noteer:

- welk product (bijv. melk, grond enz.)
- de verdunning
- tafelnummer van de onderzoeker (niet de naam of de initialen)
- datum van onderzoek.

Gebruik voor ieder medium een nieuwe spatel om uit te strijken, wel kan op hetzelfde medium van een hogere naar een lagere verdunning dezelfde spatel worden gebruikt. Verdeel met de spatel de cultuur helemaal over het oppervlak van de plaat zolang tot de plaat droog is.

¹ Indien een oppervlakte wordt bemonsterd zal de inhoud van het stomacherzakje als regel niet de 10^{-1} verdunning zijn (tenzij de verhouding $\text{cm}^2:\text{ml PFZ} = 1:10$ is), maar moet nog een extra verrekenningsfactor worden gebruikt. Men spreekt dan over de 'moedersuspensie' of 'uitgangssuspensie'. Pas de eerste verdunning hiervan wordt de 10^{-1} verdunning genoemd!

Ter voorkoming van besmetting uit de lucht nooit platen, buizen of kolven open laten staan. Dus iedere plaat of buis alleen voor de allernoodzakelijkste handelingen openen en onmiddellijk weer sluiten! Geen pipetten in de buizen laten staan!

Ga, voor het reinstrijken van kolonies als volgt te werk:

Strijk de (typische) kolonie, met de entoog, zodanig over de plaat uit dat het totale oppervlak van de plaat wordt benut en losliggende kolonies worden verkregen. Bekijk ter verduidelijking de voorbeeldplaten.

Indien voor verdere determinatie meerdere buizen of platen moeten worden gebruikt, dan dient men deze te beënten met een suspensie van een kolonie in een druppel fysiologische zoutoplossing.

Beënte platen, petrifilm, buizen of kolven zospoedig mogelijk wegzetten op de aangewezen plaatsen. Agarplaten altijd met de deksel naar beneden plaatsen. Condens op de agar leidt tot ineenvloeien van kolonies, overwoekering en daardoor onbruikbaar worden van de tellingen.

Petrifilms niet ondersteboven bebroeden.

Incubatietijd en temperatuur

De incubatietijd en -temperatuur zijn afhankelijk van het uitgangsmateriaal, de eigenschappen van de te tellen microorganismen én van het medium. Als vuistregel wordt aangehouden:

37 °C	gedurende 24-28 uur
30 °C	gedurende 2 à 3 dagen
20 °C	gedurende 5 dagen
4 °C	gedurende 14 dagen

Berekening en opgave van het koloniegetal

Voor een goede weergave van de verkregen resultaten is het van belang dat in eerste instantie wordt gecontroleerd of men te maken heeft met een aflopende decimale verdunningsreeks. Hiervoor moeten oriënterende tellingen worden uitgevoerd.

Vervolgens is de handelswijze als volgt:

- a. Zoek die platen uit waar tussen de 25 en 250 kolonies op of in aanwezig zijn. Vermenigvuldig het aldus verkregen getal met de verdunnings- of verrekeningsfactor. Geef de koloniegetallen op in logaritmische eenheden.
- b. Wanneer er in twee opeenvolgende verdunningen platen zijn die tussen 25 en 250 kolonies bevatten, bereken dan het gemiddelde van de twee verkregen eindwaarden. Wanneer de verhouding van de hoge ten opzichte van de lage waarde groter is dan 2, gebruik dan alleen de lage waarde voor de berekening van het eindresultaat.
- c. Wanneer er tussen de 7 en 25 kolonies op de plaat van alleen de laagste verdunning (eerste verdunning) aanwezig zijn, geef dan het koloniegetal weer als onder a.
- d. Wanneer minder dan 7 kolonies op de plaat van de laagste verdunning aanwezig zijn, dan is verantwoorde statistische verwerking van de gegevens niet meer mogelijk.
 - De koloniegetallen liggen dan onder de betrouwbaarheidsgrens. Er wordt dan gerapporteerd $<7 \times$ de verrekeningsfactor. Dit getal wordt dan getransformeerd in log-eenheden en gerapporteerd.

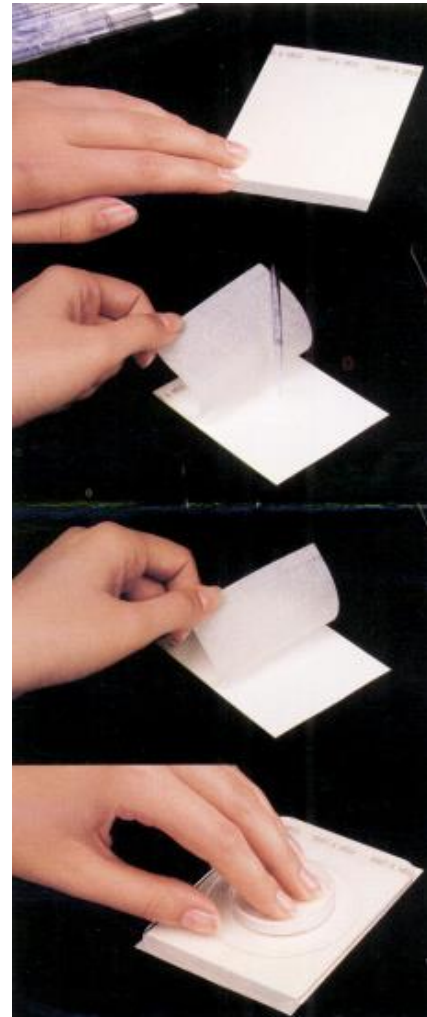
- e. Wanneer er meer dan 250 kolonies gekweekt worden en er geen "telbare" plaat (25-250) is dan wordt 1/4 of 1/8 van de plaat geteld en geëxtrapoleerd naar het aantal op 1/1 plaat. Het gevonden getal wordt altijd voorzien van de code "ca", om aan te geven dat het een benadering van het getal is.

Weergave van resultaten van groepen waarnemingen

Het aldus berekende kol. getal wordt "reële" koloniegetal genoemd. Vanuit statistisch oogpunt is het echter niet zinvol om met deze reële koloniegetallen berekeningen (bijv. gemiddelden, standaardafwijkingen etc.) uit te voeren. Daartoe moeten de reële koloniegetallen omgezet worden naar logaritmen.

Werkwijze (voor alle petrifilm platen):

- controleer dat je de goede petrifilm plaat in handen hebt (EB voor enterobacteriaceae, STX voor *Staphylococcus aureus*, AC voor totaal kiemgetal, YM voor gisten en schimmels)
- codeer de petrifilmplaten boven het rondje;
- plaats de plaat op een vlakke ondergrond (afbeelding 1);
- licht de bovenste film op en breng 1 ml. van het monster of van de verdunning in het midden van de onderste film (afbeelding 2);
- rol de bovenste film op het monster, voorkom luchtballen (afbeelding 3);
- plaats de spreider met de gladde zijde naar beneden in het midden van de plaat (er zijn verschillende spreiders, let erop dat de afkortingen op de spreiders overeenkomen met de plaat) (afbeelding 4)
- Verdeel het monster gelijkmatig d.m.v. zachte neerwaartse druk op het midden van de spreider. Verspreidt het monster over de hele petrifilm voordat de gel zich heeft gevormd. De spreider niet over de film laten glijden;
- neem de spreider weg en laat de plaat minstens 1 minuut liggen om de gel te laten stollen.



Hygiënecontrole van reiniging en desinfectie in keukens

Methode 1: Agarcontactplaatjes

Inleiding

Het principe van deze methode bestaat uit het in contact brengen van een voedingsbodem met het te bemonsteren oppervlak, waarbij micro-organismen van dit oppervlak op de voedingsbodem overgaan. Afhankelijk van de aard en de gesteldheid van het te bemonsteren oppervlak worden meer of minder van de aanwezige micro-organismen op de voedingsbodem meegenomen. In de praktijk wordt deze methode alleen toegepast om het effect te meten van reiniging en desinfectie.

Voor het gieten van de plaatjes wordt een stevige (3-4%) agarvoedingsbodem gebruikt, waarvan zóveel in het schaalpje wordt gegoten, dat het oppervlak iets bol staat. Dit is noodzakelijk om het gehele oppervlak tegen het te bemonsteren object aan te kunnen drukken.

Uitvoering

Bij het practicum worden 2 soorten agarcontactplaatjes gebruikt:

- Met PCA (geel) voor het aerobe kiemgetal
- Met VRBG (rood) voor het bepalen van Enterobacteriaceae

Bij bemonstering van een oppervlak wordt het dekseltje afgenomen en het agaroppervlak zachtjes, tegen het object gedrukt ±10 sec. (NIET DRAAIEN!).

Bij het bebroeden gedurende 1 dag bij 37 °C worden de schaalpjes omgekeerd (deksel beneden) in de broedstoof geplaatst.

Beoordeling – VRBG platen

Na goede reiniging en desinfectie horen er geen Enterobacteriaceae te groeien.

Beoordeling - PCA platen

De beoordeling van de PCA agarcontactplaatjes vindt als volgt plaats

<u>Aantal kolonies</u>	<u>Klasse</u>	<u>Kwalificatie</u>
Minder dan 3 kolonies	0	uitstekend
3 t/m 9 kolonies	1	goed
10 t/m 29 kolonies	2	matig
30 t/m 90 kolonies	3	onvoldoende
meer dan 90 kolonies	4	slecht

Methode 2: Swabmethode

Inleiding

Indien oppervlakken zwaar besmet zijn, heeft controle middels agarcontactplaatjes geen zin, omdat men dan na bebroeding een dusdanig plaatselijke opeenhoping van kolonies kan krijgen, dat een juiste beoordeling onmogelijk wordt. In dat geval kan men de swabmethode gebruiken. Ook voor moeilijk bereikbare oppervlakken (bijv. binnenkant van buizen) is deze methode geschikt.

Uitvoering

Bevochtig een alginaatswab met steriele fysiologische NaCl-oplossing. Druk de swab stevig tegen het te onderzoeken oppervlak en wrijf 3 keer in twee loodrecht op elkaar staande richtingen over het te onderzoeken gebied. Maak hierbij rollende bewegingen tegen de richting van het wassen in. Breng de swabs in 10 ml oplosvloeistof (steriele calgon). Indien als drager breekbare stokjes worden gebruikt kunnen deze juist boven de prop afgebroken worden, hetgeen het in oplossing brengen vergemakkelijkt.

Schud de swab goed in het oplosmedium. Bereid decimale verdunningen en zet van de gewenste verdunningen kolonietellingen in (op petrifilm totaal kiemgetal en Enterobacteriaceae). Bereken het aantal kve na aflezing van de bebroede platen per cm² oppervlakte.

Na twee dagen bij 30°C voor het totaal kiemgetal en 1 dag 37°C voor Enterobacteriaceae. Noteer het bemonsterde aantal cm².

Specifieke uitvoeringsvoorschriften kiemen

Totaal kiemgetal

Materiaal: petrifilm Aerobic CountPlate, 3x

steriele pipetten
verdunningsbuizen met 9 ml. pfz
spreider (T.K.)

Werkwijze (zie Enterobacteriaceae voor omgang met petrifilm platen):

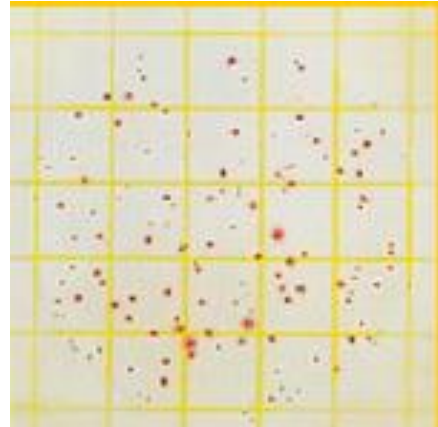
- codeer de petrifilmplaten;
- maak decimale verdunningen van het vloeibare product of van het gehomogeniseerde vaste product (zoals gemaakt voor *Salmonella*, pagina 23).

Breng het monster op de volgende manier op de platen:

Inoculeer steeds een petrifilm en verdeel dan meteen het monster voor het inoculeren van een volgende plaat!

1. Plaats de petrifilm op een vlakke ondergrond
2. Licht het schutblad op en pipetteer 1ml in het midden van de bodem
3. Leg het schutblad terug op het monster
4. Plaats de spreider, met de inkeping naar beneden, op het schutblad in het midden van de plaat
5. Verdeel het monster gelijkmatig door zacht op de spreider te drukken. De spreider niet draaien of schuiven.
6. Til de spreider op en wacht minimaal 1 minuut om de gel te laten stollen.

Tel na 3 dagen incubatie bij 30 graden de kolonies, tussen de 25 en 250. per plaat, bereken het aantal per gram of per ml. van het product. (afbeelding).



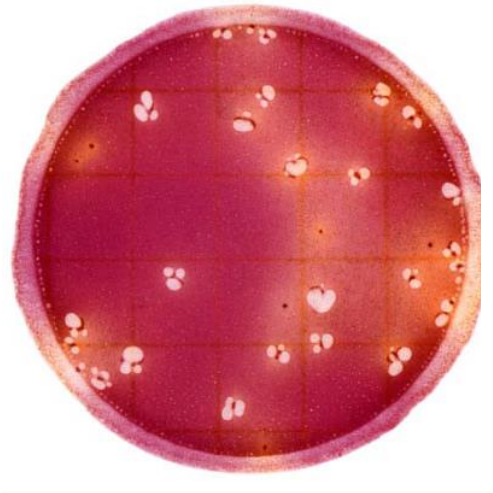
Enterobacteriaceae

Materiaal: petrifilm Enterobacteriaceae Count Plate (EB)

- sterielepipetten
- verdunningsbuizen
- spreider (E.B.)

Werkwijze

- codeer de petrifilmplaten;
- maak decimale verdunningen van het vloeibare product of van het gehomogeniseerde vaste product (zoals gemaakt voor *Salmonella*, pagina 23);
- plaats de EB petrifilm op een vlakke ondergrond;
- licht de bovenste film op en breng 1 ml. van de verdunning in het midden van de onderste film
- laat de bovenste film op het monster vallen
- plaats de spreider op het midden van de plaat. Verdeel het monster door zachtjes op het midden van de spreider te drukken, niet draaien of schuiven
- laat de plaat 1 minuut liggen om de gel te laten drogen.
- incubeer de platen 24 uur bij 37 graden;
- tel de kolonies. Enterobacteriaceae zijn rode kolonies met gele zones en/of rode kolonies met gas al dan niet met een gele zone (afbeelding). Bij grote hoeveelheden kan de hele plaat geel worden;
- bereken het aantal Enterobacteriaceae per gram of per ml. in het product.

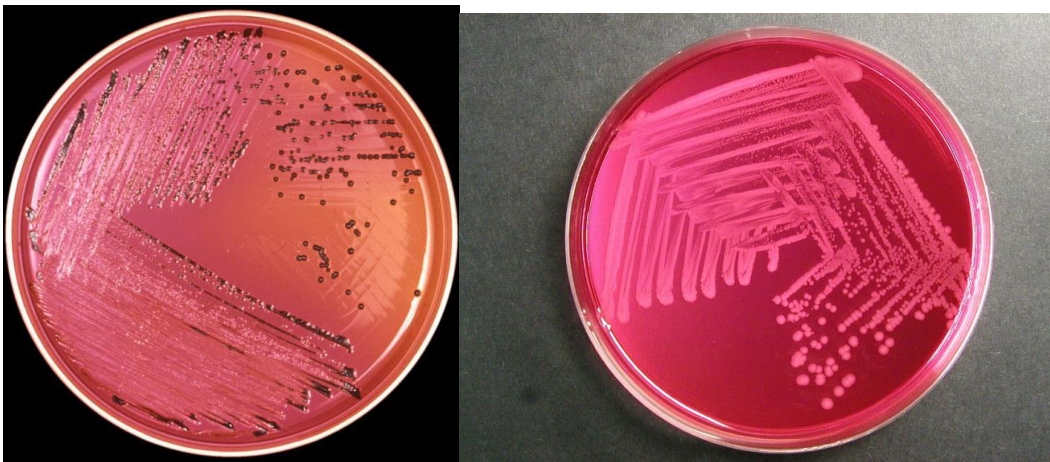


Salmonella

(volgens ISO norm 6579)

Werkwijze:

- weeg 25 gram van het te onderzoeken monster af in een stomacherzak;
- voeg 225 ml. BPW toe en mix 1.5 minuut in een stomacher. (deze oplossing is de 10^{-1} verdunning);
- incubeer deze stomacherzak 1 dag bij 37 graden;
- mix de zak door voorzichtig met de hand te schudden;
- ent 0,1 ml van de zak in een RV buis, mix goed met een vortex en zet de buis direct daarna in een waterbad van 42 graden;
- ent 1 ml van de zak in een MKTN buis, mix goed met een vortex en zet de buis direct daarna in een stoof van 37 graden;
- strijk na 24 uur beide buizen met behulp van een entoog af, zowel op een BGA als ook op een XLD plaat, zo dat je losliggende kolonies krijgt – bebroed deze platen bij 37 graden;
- bekijk na 24 uur de platen op typische kolonies (BGA: roze kolonies met een rode zone in de voedingsbodem) zie foto, XLD: rode kolonies met een zwarte punt)



XLD plaat

BGA plaat

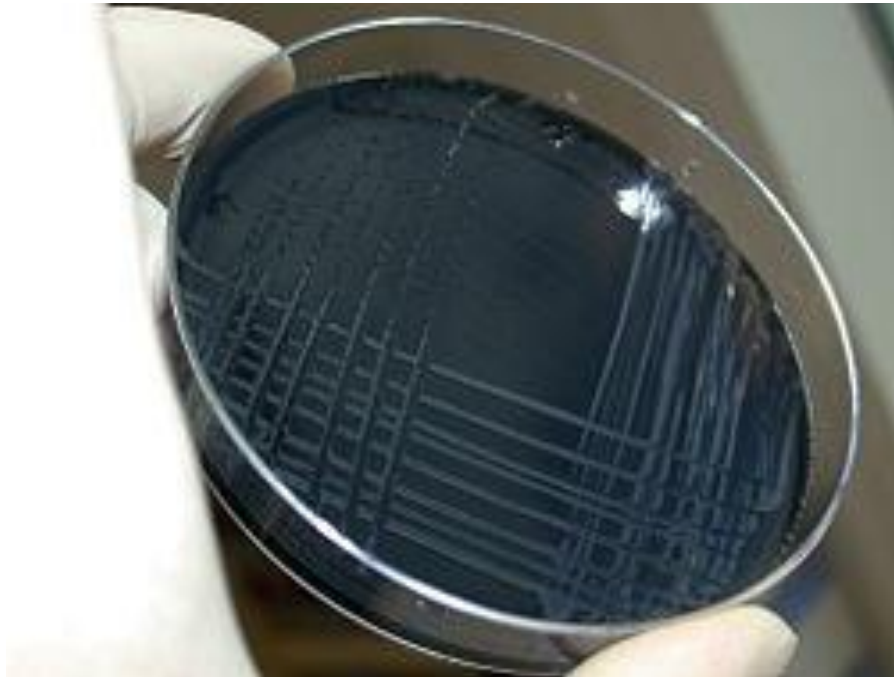
- bevestig de typische kolonies van de XLD en BGA plaat: ent dezelfde kolonie in 3 buizen; TSI, Ureum en LDC.
- Incubeer 24 uur bij 37 graden;
- lees de buizen af;
- TSI glucose +, H₂S +, en een klein beetje gas;
- Ureum –
- LDC + = troebel en blauw;
- wanneer alles klopt voor *Salmonella* doe dan de agglutinatie test vanaf de TSI buis.

Campylobacter

(volgens ISO norm 10272)

Werkwijze:

- pipetteer 1 ml. van een 10^{-1} verdunning (zoals gemaakt voor *Salmonella*, pagina 23), of van een vloeibaar te onderzoeken product, in een CCDB buis;
- schud voorzichtig;
- zet zo snel mogelijk in een anaerobe pot;
- incubeer in een microaerobe atmosfeer 24 uur bij 42 graden;
- strijk met een entoog af op een CCDA plaat;
- zet zo snel mogelijk in een anaerobe pot;
- incubeer in een microaerobe atmosfeer 48 uur bij 37 graden;
- beoordeel de platen op specifieke kolonies. (grijs/witte kolonies enigszins spreidend) zie foto;
- maak een hangende druppelpreparaat met een typische kolonie (vraag om uitleg). Campylobacters zijn zeer beweeglijk en spiraalvormig;
- doe de oxidasetest. *Campylobacter* is oxidase positief;
- doe de katalase test. De meeste Campylobacters zijn negatief.

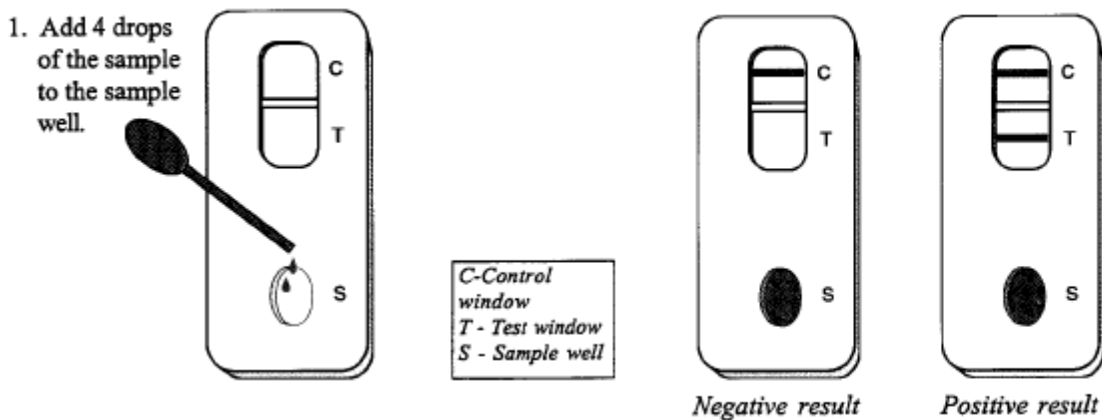


E.coli O157

Werkwijze:

- weeg 25 gram van het te onderzoeken product af in een stomacherzak met filter;
- voeg 225 ml. MTSB +novobiocine toe;
- mix in een stomacher;
- incubeer 1 dag bij 41 graden;
- mix door voorzichtig schudden met de hand;
- transporteer 1 ml. in een steriele buis;
- verwarm deze 20 min. in een waterbad van 100 graden;
- koel terug tot kamertemperatuur;
- open het folie van de Transia card;
- mix de buis op de vortex;
- vul de transferpipet met de cultuur;
- laat 4 druppels in het monstergaatje .S. vallen, daarbij de pipet verticaal houden;
- incubeer bij kamertemperatuur; 30 minuten.
- lees de kaart af. In het controle raampje .C. moet een lijntje verschijnen;
- een monster is positief als er 2 rood/paarse lijntjes verschijnen zowel in raampje .T .en in raampje .C. (zie tekening).

Deze methode geeft geen vals negatieve, maar wel soms vals positieve resultaten. Daarom moeten in de praktijk alle positieven bevestigd worden (bijv. volgens ISO 16654).



Staphylococcus aureus

Materiaal: petrifilm Staph Express Count System (STX)

steriele pipetten

verdunningsbuizen met 9 ml PFZ

spreider (S.A.)

Werkwijze (zie Enterobacteriaceae voor omgang met petrifilm platen):

- codeer de petrifilmplaten;
- maak decimale verdunningen van het vloeibare product of van het gehomogeniseerde vaste product (zoals gemaakt voor *Salmonella*, pagina 23);
- plaats de petrifilm op een vlakke ondergrond.
- licht de bovenste film op en breng 1 ml. van de verdunning in het midden van de onderste film.
- rol de bovenste film over het monster, voorkom luchtballen
- plaats onmiddellijk de spreider met de vlakke kant in het midden van de plaat. Verdeel het monster door gelijkmatig zachtjes te drukken op het midden van de spreider. De spreider niet draaien of laten glijden.
- incubeer de platen 1 dag bij 37 graden;
- Tel de rood violette kolonies (zwarte of blauw-groene zijn geen *Staphylococcus aureus*)
- bereken het aantal *Staph. Aureus*
- per gram of per ml. product.

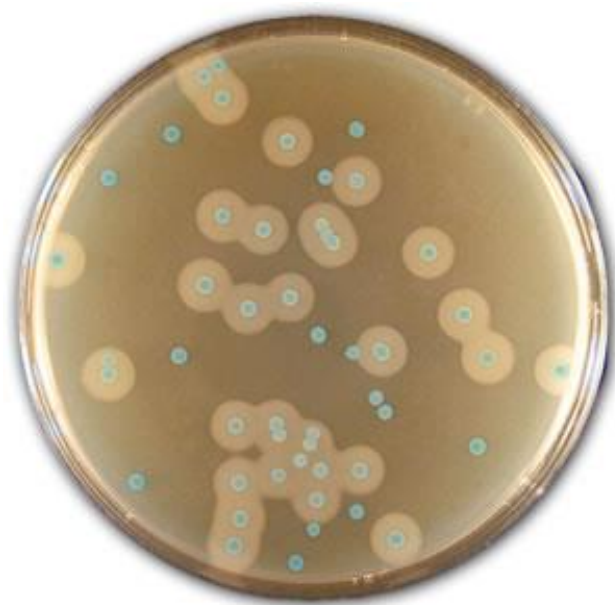


Listeria monocytogenes

(volgens ISO norm 11290)

Werkwijze:

- voeg 10 ml. uit de 10^{-1} verdunning (zoals gemaakt voor *Salmonella*, pagina 23), of uit een vloeibaar onverdund product, toe aan een dubbel geconcentreerde buis UVM (10 ml);
- bebroed deze buis 1 dag bij 30 graden;
- schud de buis voorzichtig en ent daarna 0,1 ml in een Fraser buis, mix goed!;
- bebroed 1 dag bij 37 graden;
- als de buis zwart is geworden goed vortexen en met een entoog afstrijken op een *Listeria* plaat;
- bebroed de plaat 1 dag bij 37 graden;
- *Listeria monocytogenes* geeft een typische kolonie, groen met een witte neerslaghof
- (zie foto), kolonies zonder neerslaghof zijn andere *Listeria*.



II. RESULTS

a. LAB RESULTS – AGAR DIP SLIDES

Sampleno.	Total count Count	Score	Enterocount Count	Score	Sample place	Time of sampling
1	>90	4, Bad	0	Good	Diet kitchen, working station surface, next to frying pot	14.53
2	>90	4, Bad	0	Good	Diet kitchen, working station surface, between microwave and stove	14.54
3	30-90	3, Unsatisfactory	0	Good	Central kitchen, working station surface	14.55
4	4	1, Good	0	Good	Cutting board, in shelving units near soup ovens	14.56
5	7	1, Good	0	Good	Buffet 1, working station surface right	15.09
6	>90	4, Bad	0	Good	Buffet 1, working station surface centre	15.10
7	4	1, Good	0	Good	Buffet 1, working station surface left	15.11
8	>90	4, Bad	0	Good	Buffet 2, working station surface left	15.12
9	10	2, Poor	0	Good	Buffet 2, working station surface centre	15.13
10	>90	4, Bad	1	Bad	Buffet 2, working station surface right	15.14

b. LAB RESULTS – SWABS

Swabno.	Dilution	Total count Count	Estimate	cfu/cm	cfu/cm average	Score	Enterocount Count	Score	Sample place	Sampledsurface. (cm)	Time of sampling
1	0	1	<7	<0,78	<4,28	2, Poor	0	Good	Bain marie tub	9	15.00
1	-1	1	<7	<7,78			0	Good	Bain marie tub	9	15.00
1	-2	0	0				0	Good	Bain marie tub	9	15.00
2	0	4	<7	<1,40	<1,40	1, Good	0	Good	Bain marie lid	5	15.01
2	-1	0	0				0	Good	Bain marie lid	5	15.01
2	-2	0	0				0	Good	Bain marie lid	5	15.01
3	0	0	0		0	0, Excellent	0	Good	Ladlewith holes	5	15.03
3	-1	0	0				0	Good	Ladlewith holes	5	15.03
3	-2	0	0				0	Good	Ladlewith holes	5	15.03
4	0	4	<7	<0,78	<4,28	2, Poor	0	Good	Cooking pan in shelving unit	9	15.05
4	-1	1	<7	<7,78			0	Good	Cooking pan in shelving unit	9	15.05
4	-2	0	0				0	Good	Cooking pan in shelving unit	9	15.05
5	0	0	0		0	0, Excellent	0	Good	Buffet 6, downside grip lid	10	15.15
5	-1	0	0				0	Good	Buffet 6, downside grip lid	10	15.15
5	-2	0	0				0	Good	Buffet 6, downside grip lid	10	15.15
6	0	0	0		0	0, Excellent	0	Good	Buffet 6, grip lower cabinet	10	15.16
6	-1	0	0				0	Good	Buffet 6, grip lower cabinet	10	15.16
6	-2	0	0				0	Good	Buffet 6, grip lower cabinet	10	15.16
7	0	9	9	0,9	0,9	0, Excellent	0	Good	Buffet 6, grip servingtongs	10	15.17
7	-1	0	0				0	Good	Buffet 6, grip servingtongs	10	15.17
7	-2	0	0				0	Good	Buffet 6, grip servingtongs	10	15.17

8	0	9	9	0,9	0,49	0,	Excellent	0	Good	Buffet 1, downside grip lid	10	15.23
8	-1	0	0					0	Good	Buffet 1, downside grip lid	10	15.23
8	-2	1	<7	<0,07				0	Good	Buffet 1, downside grip lid	10	15.23
9	0	0	0	0		0,	Excellent	0	Good	Buffet 1, grip lower cabinet	10	15.24
9	-1	0	0					0	Good	Buffet 1, grip lower cabinet	10	15.24
9	-2	0	0					0	Good	Buffet 1, grip lower cabinet	10	15.24
10 not used because of leaking shell												

C. LAB RESULTS – FOOD SAMPLES

Sampleno.	buffet	Food	Sample	Dilution	Total count	entero's	Salmonella	Campylobacter	VTEC	Clostridiumperfringens	Staphylococcus aureus enterotoxin	Listeria monocytogenes
		salad			<10 ⁶ cfu/gr	<10 ⁶ cfu/gr	Absent in 25 gr		<1000 cfu/gr	10 ³ per gram product	<500/gram	100 cfu/gr
5	3	salad	1	0		0	n.f.		n.f.	n.f.	n.f.	n.f.
5	3	salad	1	-1		0			n.f.			
5	3	salad	1	-2	>	0			n.f.			
5	3	salad	1	-3	>	5,50E+05			n.f.			
5	3	salad	1	-4		2,86E+07						
6	3	salad	2	0		0	n.f.		n.f.	n.f.	n.f.	n.f.
6	3	salad	2	-1		0			n.f.			
6	3	salad	2	-2	>	0			n.f.			
6	3	salad	2	-3	>	5,06E+05			n.f.			
6	3	salad	2	-4		3,54E+07						
11	2	salad	3	0		0	n.f.		n.f.	n.f.	n.f.	n.f.
11	2	salad	3	-1		0			n.f.			
11	2	salad	3	-2	>	0			n.f.			
11	2	salad	3	-3	>	8,80E+05			n.f.			
11	2	salad	3	-4		3,96E+07						
12	2	salad	4	0		0	n.f.		n.f.	n.f.	n.f.	n.f.
12	2	salad	4	-1		0			n.f.			
12	2	salad	4	-2	>	0			n.f.			
12	2	salad	4	-3	>	7,48E+05			n.f.			
12	2	salad	4	-4		3,61E+07						
		Wokmix					Absent in 25 gr	Absent	100-1000 cfu/gr			
3	3	Wokmix	1	0		0	n.f.	n.f.	n.f.		n.f.	n.f.
3	3	Wokmix	1	-1		0			n.f.			
3	3	Wokmix	1	-2		0			n.f.			
3	3	Wokmix	1	-3		0			n.f.			
3	3	Wokmix	1	-4		0						
4	3	Wokmix	2	0		0	n.f.	n.f.	n.f.		n.f.	n.f.
4	3	Wokmix	2	-1		0			n.f.			
4	3	Wokmix	2	-2		0			n.f.			
4	3	Wokmix	2	-3		0			n.f.			
4	3	Wokmix	2	-4		0						
7	2	Wokmix	3	0		0	n.f.	n.f.	n.f.		n.f.	n.f.
7	2	Wokmix	3	-1		0			n.f.			
7	2	Wokmix	3	-2		0			n.f.			
7	2	Wokmix	3	-3		0			n.f.			
7	2	Wokmix	3	-4		0						

8	2	Wokmix	4	0	0	n.f.	n.f.	n.f.	n.f.	n.f.
8	2	Wokmix	4	-1	0			n.f.		
8	2	Wokmix	4	-2	0	0		n.f.		
8	2	Wokmix	4	-3	0	0		n.f.		
8	2	Wokmix	4	-4	0					
Beef burger										
					5*10 ⁵ cfu/gr	Absent in 25 gr	Absent	50-500 cfu/gr		
1	3	Beef burger	1	0	0	n.f.	n.f.	n.f.	n.f.	
1	3	Beef burger	1	-1	0			n.f.		
1	3	Beef burger	1	-2	0	0		n.f.		
1	3	Beef burger	1	-3	0	0		n.f.		
1	3	Beef burger	1	-4	0					
2	3	Beef burger	2	0	0	n.f.	n.f.	n.f.	n.f.	
2	3	Beef burger	2	-1	0			n.f.		
2	3	Beef burger	2	-2	0	0		n.f.		
2	3	Beef burger	2	-3	0	0		n.f.		
2	3	Beef burger	2	-4	0					
9	2	Beef burger	3	0	0	n.f.	n.f.	n.f.	n.f.	
9	2	Beef burger	3	-1	0			n.f.		
9	2	Beef burger	3	-2	0	0		n.f.		
9	2	Beef burger	3	-3	0	0		n.f.		
9	2	Beef burger	3	-4	0					
10	2	Beef burger	4	0	0	n.f.	n.f.	n.f.	n.f.	
10	2	Beef burger	4	-1	0			n.f.		
10	2	Beef burger	4	-2	0	0		n.f.		
10	2	Beef burger	4	-3	0	0		n.f.		
10	2	Beef burger	4	-4	0	0		n.f.		

tested later due to circumstances

not tested according to sampling plan

III. PICTURES



Picture 1 Inspection - Quick tour by head of the kitchen , Paresto



Picture 2 Inspection – Impression cooling units & delivered foods



Picture 3 Inspection – Impression kitchen and storage



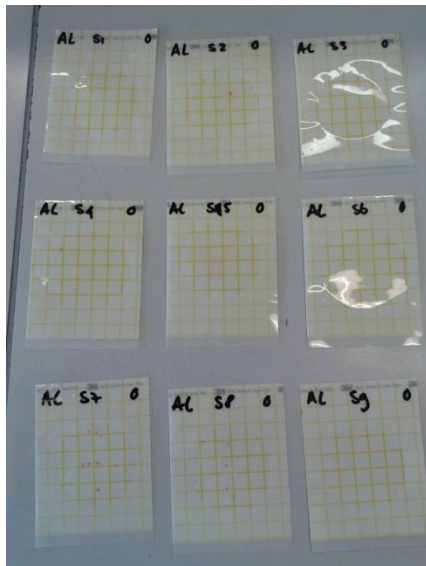
Picture 4 Inspection – Instruction temporary employees



Picture 5 Agar dip slides



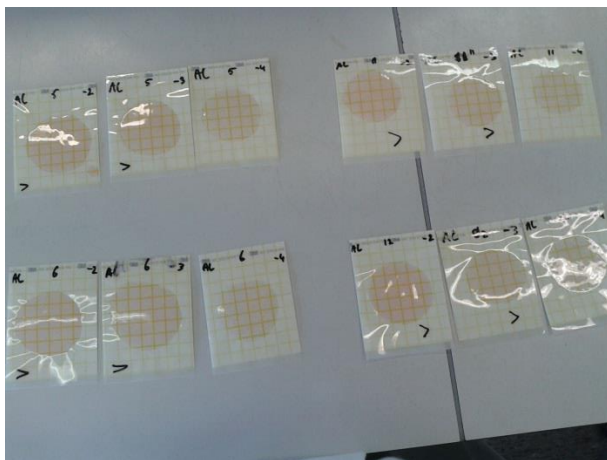
Picture 6 NRS Transwab



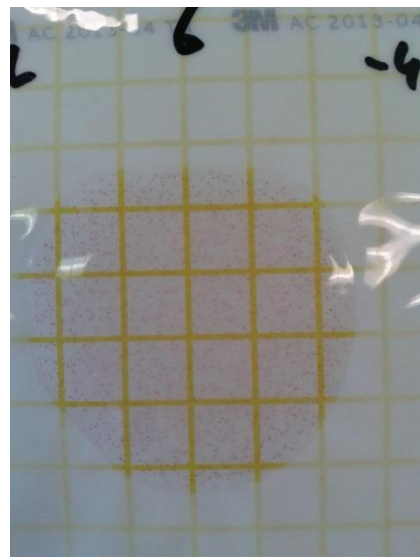
Picture 7 Aerobic count plates Swabs



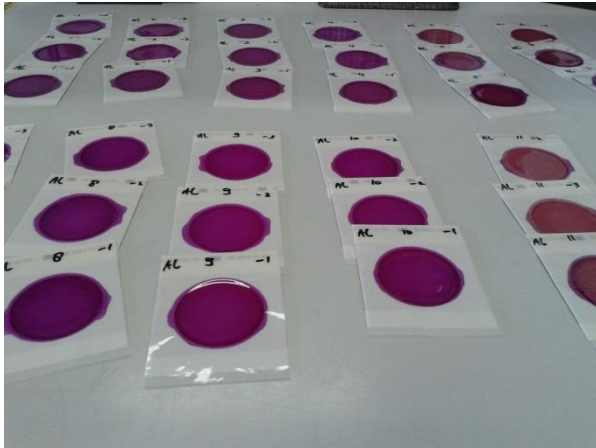
Picture 8 core thermometer – Hanna Instruments, checktemp-1 C



Picture 9 Aerobic count plates samples salad



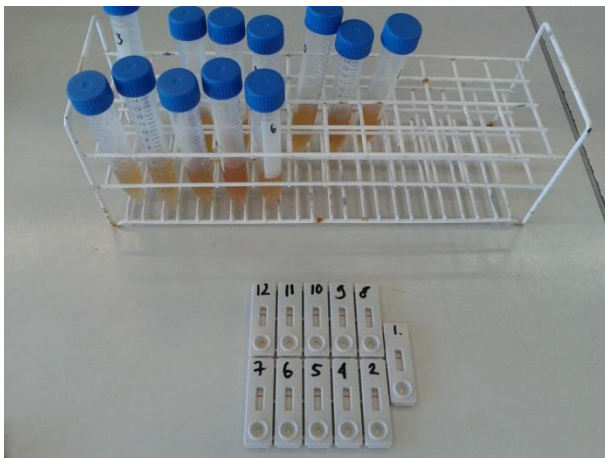
Picture 10 Aerobic count plates samples salad – detailed



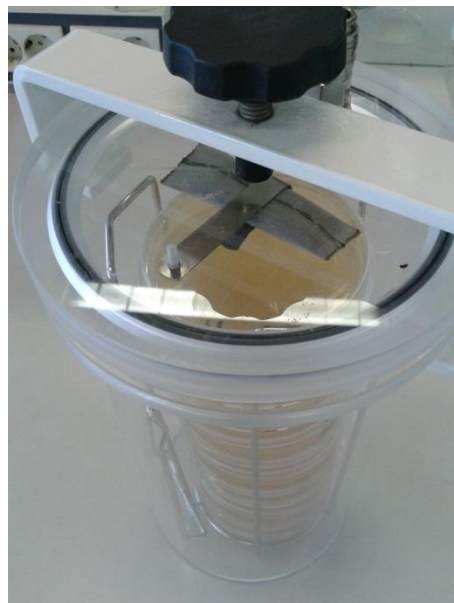
Picture 11 Enterobacterial count food samples



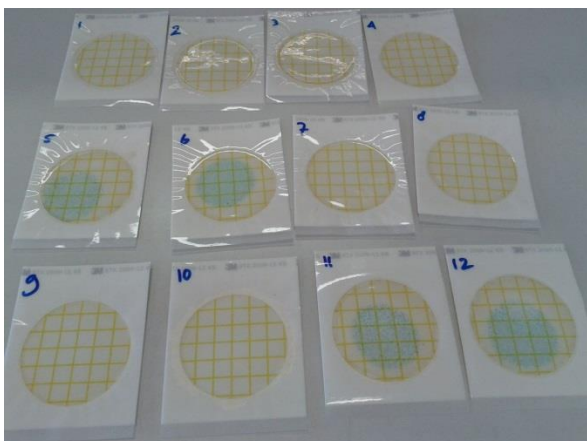
Picture 12 Salmonella Ureum, LDC and TSI tubes



Picture 13 E. coli broth tubes and negative quickscans



Picture 14 Listeria perfringens pour plates in anaerobic jar



Picture 15 S. aureus count plates



Picture 16 Listeria tubes, negative result

IV. RESEARCH PROPOSAL/ ONDERZOEKSVORSTEL

Onderzoeksvorstel Aniek Lotterman

Personalia	
Studentnummer:	3185311
Naam:	Aniek Lotterman
Curriculum:	Master
Telefoonnummer:	0628299031
E-mailadres:	a.lotterman@students.uu.nl

Onderwerp en plaats van uitvoering	
Titel van onderzoek:	Risicoinventarisatie voedsel- en watergerelateerde ziekte onder de militairen van kamp Heumensoord.
Geplande aanvangsdatum:	03-06-2013
Departement:	IRAS-VPH / Defensie
Begeleider op de faculteit:	Joris Wijnker
Bij externe stage	Adjudant Eric de Haan
Naam en contactgegevens begeleider ter plaatse:	Hygiëne en Preventieve Gezondheidszorg
E-mailadres begeleider(s):	info@vphc.eu / j.j.wijnker@uu.nl e.d.haan.07@mindef.nl

Inleiding / Achtergrond

Tijdens de Nijmeegse vierdaagse zet defensie kamp Heumensoord op. Dit kamp is vergelijkbaar met een tijdelijke kazerne, waar onder andere maaltijden en eetplekken aangeboden worden aan de deelnemende militairen. Zoals beschreven in de Algemene Levensmiddelen Verordening van de Warenwet zijn alle bedrijven en organisaties die voedsel bereiden, verwerken, behandelen, verpakken, vervoeren, distribueren en verhandelen verantwoordelijk voor de veiligheid van dat voedsel. Voor kamp Heumensoord ligt deze primaire verantwoordelijkheid bij defensie.

De eisen die defensie stelt ten aanzien van de voedselveiligheid zijn vastgelegd in het Handboek Voedselveiligheid Defensie en zijn geformuleerd op basis van een risicoanalyse. Dit handboek beschrijft de randvoorwaarden op voedselveiligheid; de processen en werkwijzen om de voedselveiligheid aantoonbaar en effectief te beheersen; de monitoring van het voedselveiligheidssysteem en hoe continu en aantoonbaar de voedselveiligheidsprocessen van Defensie te optimaliseren. Voedselveiligheid vormt een integraal onderdeel van het veiligheidsbeleid van Defensie. Dit is vastgelegd in het veiligheidsmanagementsysteem Defensie.

Doel van het onderzoek / Hypothese

Een inschatting geven van het risico op voedsel- of watergerelateerde ziekte voor de deelnemende militairen vanuit kamp Heumensoord ten tijde van de Nijmeegse Vierdaagse.

In dit onderzoek zal er aandacht gegeven worden aan het proces en de bijbehorende kwaliteitsgaranties vanuit voorgaande stappen in de productieketen. Daarnaast zal ten tijde van het evenement op basis kwalitatief en kwantitatief onderzoek een inschatting van het risico op voedsel- en watergerelateerde ziekte worden bepaald. Er zal respectievelijk gekeken worden naar de uitvoering van de hygiëncode rondom keukenhygiëne en er

zullen monsters genomen worden, zowel afdrukplaatjes als water- en voedselmonsters, welke opgekweekt zullen worden en waarvan

Uiteindelijk zullen de bevindingen hierbij gepresenteerd worden in een rapport en mondelinge presentatie.

Uitvoering van de stage: werkplan, protocollen, materialen en methoden

Allereerst zal het HACCP-plan van de relevante voorgaande stappen in de keten worden bekeken en vervolgens zal er een plan opgesteld worden om ten tijde van het evenement te controleren of de preventieve maatregelen worden uitgevoerd zoals beschreven in het handboek en onderzocht worden middels monsternamen op hun respectievelijke effectiviteit. Wanneer de inspectie uitgevoerd is en de monsters genomen zullen de bevindingen uitgewerkt worden en de monsters ingezet. De resultaten van de in het laboratorium uitgevoerde onderzoeken worden verwerkt en zullen samen met de bevindingen bij de inspectie uitgewerkt worden in een verslag waarbij er zo mogelijk en indien nodig conclusies worden gepresenteerd en adviezen ter verbetering worden opgesteld.

Werkplan:

Het is belangrijk dat de monsters zo vroeg mogelijk in de week genomen worden (wellicht de dinsdagochtend of zelfs de maandagavond al?). Er kunnen afdrukplaatjes, swabs en voedingsmonster genomen worden. Hygiëne wordt getest met behulp van een enterocount en totaal kiemgetal. Voedselveiligheid kan getest worden op basis van enkele specifieke verwekkers (totaal kiemgetal, entero's, *E.Coli*O157, *Salmonella*, *Listeria*, *Bacillus cereus*, *Staph. aureus*). Welke kiemen het meest interessant zijn om te onderzoeken is afhankelijk van het menu van die dag. De hoeveelheid monsters is vervolgens afhankelijk van mijn verwerkingscapaciteit (boven statistische analyse, gezien ik het labwerk alleen doe). Alles moet in een dag uitgevoerd kunnen worden en moet ingezet en verwerkt zijn vóór die zaterdag (omdat in het weekend geen toegang tot het lab verleend kan worden voor verdere uitvoering van de tests).

Het exacte plan is afhankelijk van het, op dit moment nog onbekende, menu, aantal eters en dag van monsternamen.

Vorbereiding

Inlezen werkwijzen Defensie en keukenhygiëne.

Kamp Heumensoord

Inspectie

Monstername

Monsterbewaring

Laboratorium

Inzetten monsters

Uitvoeren diagnostiek

Uitlezen resultaten

Rapportage

Analyse resultaten

Interpretatie resultaten

Conclusie

Afronding

Presentatie rapport

Tijdsplanning

Week	Onderdeel	Afspraken
1. 3 juni	Inlezen procedures en werkwijze HACCP	
2. 10 juni	Inlezen procedures en werkwijze Opstellen monsterplan	Bespreking vierdaagse in Nieuw Milligen Bespreken monsterplan
3. 17 juni	Uitwerken risicoanalyse obv menu	
4. 24 juni	Reflectie en evaluatie handboek	
5. 1 juli	Reflectie en evaluatie handboek	
6. 8 juli		
7. 15 juli	Nijmeegse vierdaagse, Audit en monstername Monsters inzetten	
8. 22 juli	Uitlezen en verwerken resultaten	Bespreken resultaten
9. 28 juli	Interpretatie resultaten	Bespreken interpretatie
10. 5 augustus		
11. 12 augustus	Conceptverslag & opzet presentatie	Bespreking conceptverslag Bespreking opzet presentatie
12. 19 augustus	presentatie Verwerking feedback en definitief verslag 22 Augustus: afsluiting	Bespreking definitief verslag en eindgesprek.

Terugkoppeling:

- Wekelijks overleg met Joris Wijnker
- Wekelijks overleg Eric de Haan