



**WETENSCHAPPELIJK COMITÉ
VAN HET FEDERAAL AGENTSCHAP VOOR DE VEILIGHEID
VAN DE VOEDSELKETEN**

ADVIES 27-2008

Betreft : Beoordeling van een bemonsteringsplan voor het opsporen van mogelijke verontreiniging van kopvlees van runderen met centraal zenuwstelsel weefsel en beoordeling van mogelijke correctieve maatregelen (dossier Sci Com 2008/13).

Advies gevalideerd door het Wetenschappelijk Comité op 10 oktober 2008.

Samenvatting

Er wordt aan het Wetenschappelijk Comité gevraagd om een bemonsteringsplan te beoordelen, gebaseerd op een laboratoriumtest, voor het opsporen van verontreiniging door centraal zenuwstelsel (CZS) weefsel van kopvlees van runderen (i) in slachthuizen die kopvlees van runderen uitsnijden, (ii) in slachthuizen die kanalisatie toepassen en (iii) in uitsnijderijen die erkend zijn om kopvlees uit te snijden. Er wordt aan het Wetenschappelijk Comité ook gevraagd om correctieve maatregelen te beoordelen die betrekking hebben op de slachtprocessen die eventueel moeten worden toegepast in slachthuizen die een hoge prevalentie van verontreiniging van kopvlees met CZS weefsel vertoonden.

Het Wetenschappelijk Comité meent dat de toepassing van een bemonsteringsplan geen relevante informatie zal aanleveren over de kwaliteit van de slachtprocessen in de verschillende slachthuizen vanwege de vermoedelijk te geringe specificiteit van de thans in België gebruikte ELISA Ridascreen-test en het feit dat de prevalentie van de verontreiniging van kopvlees met CZS-weefsel in de Belgische slachthuizen onbekend is.

Daarentegen raadt het Wetenschappelijk Comité aan om in alle Belgische slachthuizen een screening uit te voeren, om een globale prevalentie van CZS contaminatie te ramen, in combinatie met een individuele enquête toegespitst op de slachtprocessen en hun kritische punten aan de hand van een exhaustieve checklist. Aan de hand van de bekomen gegevens kan de correlatie tussen de prevalentie van verontreiniging van kopvlees met CZS weefsels in België en aanwezigheid van kritische punten in die slachthuizen bestudeerd worden en hypothesen ivm risicofactoren zullen kunnen geformuleerd worden. Vervolgens kan, nadat het prevalentie niveau per slachthuis individueel is ingeschat op basis van de aanwezige risicofactoren, een aangepast bemonsteringsplan worden opgemaakt om eventueel correctieve maatregelen vast te leggen.

Er werden een uitgebreide lijst van kritische punten voor de verontreiniging van koppen en karkassen met CZS-weefsel in de slachthuizen opgemaakt evenals aanbevelingen vastgesteld om het risico voor verontreiniging te verminderen (correctieve maatregelen).

Advice 27-2008 of the Scientific Committee of the FASFC on the evaluation of a sampling plan to detect possible contamination of head meat with central nervous system tissue and evaluation of possible corrective measures

The Scientific Committee is asked to evaluate a sampling plan, based on a laboratory test, to detect central nervous system (CNS) tissue contamination on head meat of bovine animals (i) at slaughterhouses harvesting bovine head meat, (ii) at slaughterhouses applying canalization, and (iii) in cutting plants authorized to harvest head meat. The Scientific Committee is also asked to evaluate corrective measures in regard to slaughtering processes, to be eventually applied in slaughterhouses with high prevalence of CNS contamination of head meat.

Considering the probably too low specificity of the ELISA Ridascreen test currently applied in Belgium, and considering the absence of knowledge about the current prevalence of contamination of head meat by CNS tissue in Belgian slaughterhouses, the Scientific

Committee is of opinion that the application of a sampling plan will provide no pertinent information about the quality of slaughtering processes in the different slaughterhouses. On the other hand, the Scientific Committee recommends to execute in all Belgian slaughterhouses a screening to estimate the global prevalence of CNS tissue contamination in combination with an individual survey of the slaughtering processes and their critical points with an exhaustive checklist. On basis of these obtained data, correlations between prevalence of CNS tissue contamination of head meat and presence of critical points can be established in the slaughterhouses and risk factors can be determined. In a second time, after having determined the prevalence level in each individual slaughterhouse based on present risk factors, a sampling plan can be developed to eventually propose corrective measures. An extended list of critical points for contamination of heads and carcasses by CNS tissue in slaughterhouses and recommendations to decrease the risk of contamination (corrective measures) are proposed.

Sleutelwoorden

BSE – centraal zenuwstelsel (CZS) – slachthuis – bemonstering – kopvlees – uitsnijderij – GRM

1. Referentietermen

Volgens bijlage V bij Verordening (EG) nr. 999/2001 worden de weefsels van het CZS (zoals de hersenen en het ruggenmerg) van runderen van meer dan 12 maanden oud beschouwd als gespecificeerd risicomateriaal (GRM) dat het agens van boviene spongiforme encefalopathie (BSE) kan bevatten. Om die reden moet worden vermeden dat kopvlees van runderen tijdens het slachtproces en het uitsnijden van het vlees door CZS weefsel wordt verontreinigd.

Punt 8 van bijlage V bij Verordening (EG) nr. 999/2001 stelt dat kopvlees van runderen van meer dan 12 maanden oud alleen mag worden verzameld in slachthuizen die beschikken over een door de bevoegde autoriteit gevalideerd controlesysteem. Dat systeem moet de invoering van een gevalideerde bemonsteringsplan voor het opsporen van CZS weefsel bevatten dat gebaseerd is op een laboratoriumtest.

Punt 9 van bijlage V bij Verordening (EG) nr. 999/2001 voorziet ook in het uitvoeren van een bemonsteringsplan in uitsnijderijen en in slachthuizen die koppen naar uitsnijderijen verzenden (« kanalisatie ») voor het verzamelen van het vlees

De medewerkers van het FAVV moeten uitmaken of de door de slachthuizen en uitsnijderijen voorgestelde bemonsteringsplannen volstaan om het risico voor verontreiniging van kopvlees van runderen met CZS weefsel te beheersen. Het Directoraat-generaal Controlebeleid stelde een bemonsteringsplan voor dat bestemd is voor de slachthuizen.

2. Gestelde vragen

Er wordt aan het Wetenschappelijk Comité gevraagd om het door DG Controlebeleid voorgestelde bemonsteringsplan voor het opsporen van CZS weefsel te evalueren¹ : (1) voor de slachthuizen waar kopvlees van runderen van meer dan 12 maanden oud wordt verzameld, (2) voor de uitsnijderijen waar kopvlees van runderen van meer dan 12 maanden oud wordt verzameld en (3) voor de slachthuizen van waaruit koppen van runderen van meer dan 12 maanden oud worden verzonden ('kanalisatie') naar erkende uitsnijderijen die het kopvlees verzamelen, zoals voorgeschreven in Verordening (EG) nr. 999/2001, bijlage V, respectievelijk punten 8.1., f, 9. f et 9. d.

¹ Het bemonsteringsplan dat door DG Controlebeleid wordt voorgesteld is als volgt :
dosering van GFAP op 5 koppen van runderen van meer dan 12 maanden oud door ad random bemonstering (op één slachtdag) ten minste éénmaal per week en gedurende 10 opeenvolgende weken (in totaal 50 monsters over 10 weken, of 3050 monsters voor alle slachthuizen samen per cyclus van 10 weken), continu in de tijd. De frequentie mag voor kleine slachthuizen worden aangepast. De frequentie mag worden verlaagd naar éénmaal per twee weken als de resultaten gedurende 30 opeenvolgende weken toereikend zijn.

Het voorstel van bemonsteringsprocedure door DG Controlebeleid is als volgt :
De kauwspieren worden tweezijdig bemonsterd met behulp van éénzelfde cosmetisch wattenschijfje over een oppervlakte van telkens 100 cm² (niet-destructieve methode).

De door DG Controlebeleid voorgestelde grenswaarde voor de prevalentie vanaf dewelke het slachthuis moet worden onderworpen aan correctieve maatregelen is als volgt:

- *ofwel 1 positief resultaat (aanwezigheid van GFAP) op 50 monsters (2%) met een waarde die groter is dan of gelijk aan de standaard 0,4% (wat volgens het artikel van Troeger et al., 2004, overeenkomt met een hoge verontreinigingsgraad)*
- *ofwel meer dan 1 positief resultaat op 50 monsters (> 2%) los van de vastgestelde waarde (> of < dan de standaard 0,4%)*

Er wordt ook aan het Wetenschappelijk Comité gevraagd om voorstellen voor correctieve maatregelen (Troeger *et al.*, 2004, Ramantanis *et al.*, 2006) te beoordelen. Die maatregelen zouden moeten worden genomen als de toepassing van het bemonsteringsplan slechte resultaten oplevert.

Overwegende de besprekingen tijdens de werkgroepvergaderingen van 6 mei en 23 juni 2008 en de plenaire zitting van 10 oktober 2008 ;

geeft het Wetenschappelijk Comité het volgende advies :

3. Advies

3.1. Inleiding

3.1.1. Advies 10-2007 van 11 mei 2007 van het Wetenschappelijk Comité

Het Wetenschappelijk Comité stelde, in advies 10-2007, dat het risico voor de voedselveiligheid als gevolg van de verontreiniging van het kopvlees met CZS weefsel bij runderen (BSE-context) zeer klein is aangezien de thans geringe incidentie van BSE in België en in Europa. Het risico voor de consument werd als punctueel gekwalificeerd omdat aan drie voorwaarden moet worden voldaan : (1) inname van vlees dat afkomstig is van een met BSE besmet rund, (2) besmette rund niet opgespoord bij de snelle tests en (3) vlees verontreinigd met CZS weefsel. Het Wetenschappelijk Comité was van mening dat punt 7 van bijlage XI bij Verordening (EG) nr. 999/2001 moest worden gehandhaafd aangezien het verwijderen van GRM de belangrijkste maatregel is om de volksgezondheid te beschermen. Het Comité stelde ook voor om het probleem rond de verontreiniging van kopvlees van runderen door CZS weefsel aan te snijden, o.m. als een middel om de hygiëne van het slachtproces in slachthuizen (goede slachtpraktijken) te beoordelen.

Het Wetenschappelijk Comité wees ook op de problematiek rond de verontreiniging van karkassen met CZS weefsels bij het doorzagen van de wervelkolom (Helps *et al.*, 2002 ; Schmidt *et al.*, 1999 ; Pendergast *et al.*, 2003 ; Anil *et al.*, 1999, Lücker *et al.*, 2002) ook wanneer het ruggenmerg vooraf wordt opgezogen (Schwägele *et al.*, 2002).

3.1.2. Voorafgaandelijke beschouwingen

- Volgens Verordening (EG) nr. 999/2001 mag het gespecificeerd risicomateriaal (GRM), dat bestaat uit de amandelen, de ingewanden en het mesenterium van runderen van alle leeftijden, de schedel (inclusief de hersenen en de ogen) en het ruggenmerg van runderen van meer dan 12 maanden oud en de wervelkolom van runderen van meer dan 30 maanden oud, niet in voedselketen terecht komen en moet het worden vernietigd.
- De invoering van het bemonsteringsplan door het Agentschap heeft niet als doel de koppen bij positief resultaat te vernietigen maar wel de slachtprocessen in de slachthuizen en de goede praktijken in de uitsnijderijen te beoordelen om in aansluiting op de resultaten eventuele correctieve maatregelen te kunnen voorstellen. Er wordt dus een verbetering van de slachtprocessen nagestreefd.

- Volgens Verordening (EG) nr. 999/2001 moet het bemonsteringsplan absoluut gebaseerd zijn op een laboratoriumtest voor het opsporen van CZS weefsel.

3.1.3. Methoden voor het opsporen van CZS weefsel

De literatuur beschrijft verscheidene methoden voor het opsporen van CZS weefsel. De Europese Commissie laat de lidstaten vrij hun methode te kiezen zolang die maar wetenschappelijk gefundeerd is. De methode moet dus niet noodzakelijk officieel gevalideerd zijn. De ideale methode zou voor het beoogde doel (oppervlakkige bemonstering met swabs van de kopvlees) routinematig moeten kunnen worden toegepast en zou een maximale diagnosegevoeligheid en –specificiteit moeten hebben.

De volgende methoden bestaan:

- De colorimetrisch sandwich ELISA-test (RIDASCREEN) voor het opsporen van « Glial Fibrillary Acidic Protein » (GFAP) (Schmidt *et al.*, 1999, 2001, 2002 ; Agazzi *et al.*, 2002, 2004 ; Hossner *et al.*, 2006 ; Bozetta *et al.*, 2006) is de enige test die tegenwoordig in België ingesteld, wetenschappelijk gevalideerd (Bülte *et al.*, 2001), verkocht en gebruikt wordt. De test kan routinematig worden toegepast, is goed geschikt voor bemonstering met swabs op rauw vlees of in vleesmonsters en is kwantitatief. De test is nauwkeurig, de gevoeligheid ervan is gelijk aan 97,9% (IC 95% : 0,89 – 1) bij een cut-off waarde van 0,049%, maar bij diezelfde cut-off waarde is de specificiteit ervan slechts 97,4% (IC 95% : 0,89 – 1) (Bozetta *et al.*, 2006). Dit specificiteitsprobleem hangt samen met de aanwezigheid van weefsel van het perifere zenuwstelsel (bijvoorbeeld, aanwezigheid van zenuwen) (Schmidt *et al.*, 1999). Het cijfer van 97,4%, vooropgesteld door Bozetta (2006), heeft betrekking op de specificiteit van de test in monsters van gehomogeniseerd vlees (waarin mogelijk zenuwweefsel aanwezig is) en slaat niet op uitstrijkmonsters van het oppervlak van de kauwspier (weinig waarschijnlijk dat hierop zenuwweefsel aanwezig is). Alhoewel er geen gegevens beschikbaar zijn in de wetenschappelijke literatuur om de specificiteit van deze test te meten in stalen afkomstig van uitstrijkjes, hetgeen het beoogde doel is van dit advies met name de oppervlakte contaminatie te bepalen, kan men veronderstellen dat de specificiteit hoger zal zijn. Een dergelijke test met een specificiteit van 97,4% zal automatisch 2,6% vals positieve resultaten geven met een cut-off van 0,049%). Het is nochtans mogelijk om de specificiteit van een test te verbeteren door de cut-off waarde te verhogen, maar dat gaat ten koste van de gevoeligheid.
- De fluorescentie-ELISA-test voor het opsporen van GFAP (Hossner *et al.*, 2006) is gevoeliger en specifieker (geen vals positieve gevallen, ofschoon geen cijfers worden gegeven in de studie) dan de colorimetrische test. Hossner (2006) vergeleek beide ELISA-tests : met de fluorescentie-ELISA-test kan de aanwezigheid worden opgespoord van 0,05% hersen- of ruggenmergweefsel in het vlees terwijl de colorimetrie-ELISA test slechts 0,3% tot 0,2% ruggenmergweefsel opspoort, verontreiniging met hersenweefsel niet aantoonbaar en veranderlijke resultaten te zien geeft als het monster met behulp van een swab wordt genomen. Deze resultaten zijn echter in tegenspraak met die van andere studies (Hajmeer *et al.*, 2003). EFSA (EFSA-Q-2003-122) raadt aan om de resultaten van de commerciële RIDASCREEN-test periodiek te controleren met de fluorescentietest (Schmidt *et al.*, 2002). Er zijn in België in de handel antistoffen verkrijgbaar maar de test wordt nog niet daadwerkelijk uitgevoerd in de Belgische laboratoria.

- De Real time PCR-test voor het aantonen van mRNA van GFAP (Schönenbrücher *et al.*, 2007) kan routinematig worden gebruikt, is geschikt voor swabmonsters op kopvlees of in vleesmonsters en is kwantitatief. Deze test heeft een diagnosegevoeligheid van 100% en is zeer specifiek (ofschoon hierover geen cijfers worden gegeven in de studie van Schönenbrücher). Deze test wordt thans echter evenmin uitgevoerd in België. Daarnaast is het, om een verontreiniging aan te tonen ideaal om, eiwitten (bijvoorbeeld GFAP) op te sporen en niet nucleïnezuren (de stabiliteit van mRNA is te gering, wat het risico van vals negatief resultaat verhoogt). Ten slotte is voor deze methode specifieke laboratoriumuitrusting vereist.
- Er bestaan nog enkele andere methoden die echter niet routinematig kunnen worden toegepast of die niet voldoen aan de minimumeisen om voor het beoogde doel bruikbaar te zijn (RT-PCR op GFAP + RFLP (Seyboldt *et al.*, 2003); immunohistochemie op GFAP of op « neuronal specific enolase » (NSE) (Lücker *et al.*, 1999, 2000; Wenisch *et al.*, 1999); GS/MS (Biedermann *et al.*, 2004, Lücker *et al.*, 2004); histologie en immunocytochemie (Love *et al.*, 2000); enzymspectrofotometrie op cholestérol (Lücker *et al.*, 1998, 1999), ELISA voor het opsporen van syntaxine 1- β (Love *et al.*, 2000), en rechtstreeks opsporen van de aanwezigheid van prioneiwit in vlees (Lücker *et al.*, 2002).

3.1.4. Huidige prevalentie van CZS weefsel op koppen van runderen in slachthuizen en in uitsnijderijen

Om de grootte te bepalen van een monster voor het aantonen van CZS weefsel op kopvlees van runderen moet men vooreerst de verwachte prevalentie van CZS weefsel (bijvoorbeeld GFAP) op kopvlees in de Belgische slachthuizen kennen. Die prevalentie is niet bekend aangezien in de Belgische slachthuizen nooit aan screening werd gedaan.

Een verkennende studie die in 2005 en 2006 aan de ULg werd uitgevoerd met de RIDASCREEN-methode op basis van monsters uit twee Belgische slachthuizen wees op een prevalentie van GFAP op de kauwspieren van runderen van 1,97% (5 positieve monsters op 254 analyses, 95 %-betrouwbaarheidsinterval : 0,64 – 4,53). Deze studie vertoont echter een systematische fout omdat zij werd uitgevoerd op basis van een beperkt aantal (twee) vrijwillige slachthuizen. Moje (2002) toonde, met de RIDASCREEN-methode, een GFAP prevalentie aan in slachthuizen (Duitsland) van 26% op kauwspieren, van 72 % ter hoogte van het *foramen magnum* en van 95% in de schotopening na verdoving met een slachtpistool met vangstaaf. Er is geen andere studie beschikbaar over de prevalentie van de verontreiniging van koppen. Anderzijds wijzen een aantal studies op een hoge prevalentie van de verontreiniging van karkassen met CZS weefsel na slijten van de wervelkolom (Troeger *et al.*, 2004, Schwagele *et al.*, 2002).

Er is geen enkele studie beschikbaar over de prevalentie van CZS weefsel in kopvlees in uitsnijderijen.

3.1.5. Aantal slachthuizen en uitsnijderijen die erkend zijn om kopvlees uit te snijden in België en capaciteit van die inrichtingen

Om de grootte van een monster te kunnen bepalen, moet de maat van de populatie gekend zijn waarop de bemonstering moet gebeuren. Een overzichtsschema van de

toegelaten circuits voor het verzamelen van kopvlees van runderen van meer dan 12 maand oud in België is weergegeven in **bijlage 1**.

In het geval van slachthuizen gaat het om het aantal koppen van runderen van meer dan 12 maand oud, d.w.z. het aantal runderen van meer dan 12 maand oud die per jaar in België worden geslacht. In principe zouden de runderen, waarvan de koppen direct door de slachthuizen² naar een destructiebedrijf verstuurd worden en bij gevolg het kopvlees niet wordt verzameld, niet in aanmerking moeten worden genomen. Omdat het de bedoeling is om de slachtprocedures te evalueren en aangezien dergelijke slachthuizen in de toekomst een erkenning kunnen aanvragen, werd er in het kader van dit advies echter wel rekening mee gehouden om de monstergrootte te bepalen.

De monstergrootte moet dus worden verdeeld over de slachthuizen die erkend zijn om kopvlees uit te snijden (in België zijn er thans geen), de slachthuizen die aan kanalisatie doen en de slachthuizen die de koppen naar een destructiebedrijf sturen, d.w.z. over alle Belgische slachthuizen, in verhouding tot hun respectievelijke capaciteit.

De capaciteiten van de verschillende Belgische slachthuizen zijn weergegeven in **bijlage 2a, kolommen A en B**.

Voor de uitsnijderijen die erkend zijn voor het verzamelen van kopvlees die koppen ontvangen van slachthuizen die aan kanalisatie doen, is de populatie gelijk aan het aantal koppen van runderen van meer dan 12 maand oud waarvan het vlees per jaar in België wordt verzameld. De monstergrootte moet ook worden verdeeld over de verschillende uitsnijderijen, in verhouding tot hun capaciteit. De capaciteiten van de verschillende Belgische uitsnijderijen zijn weergegeven in **bijlage 2b, kolommen A en B**.

3.2. Antwoord op de vragen

3.2.1. Vraag 1 : Evaluatie van het bemonsteringsplan

3.2.1.1. Aanbevelingen over de te gebruiken opsporingstests

De RIDASCREEN-test is de enige test die thans in België wordt toegepast om de aanwezigheid van CZS weefsel op het oppervlak van kopvlees van runderen vast te stellen. Ondanks geen kennis te hebben van deze specificiteit bij monsternamen via een uitstrijkje en zijn relatieve zwakke specificiteit op monsters gehomogeniseerd vlees, raadt het Wetenschappelijk Comité aan deze te gebruiken om de screening vóór het bemonsteringsplan uit te voeren (zie punt 3.2.1.2.).

Volgens het Wetenschappelijk Comité zou de bepaling van aanwezigheid van CZS weefsel in de opstartfase (screening) door een referentielaboratorium moeten worden toegepast om de homogeniteit van de resultaten te verzekeren. Het Wetenschappelijk Comité beveelt aan dat dit referentielaboratorium de RIDASCREEN test op punt zou stellen door de cut-off waarde dusdanig te bepalen dat een optimale sensitiviteit en specificiteit worden bekomen.

² Van de 9 erkende uitsnijderijen zijn er 4 die kopvlees verzamelen dat afkomstig is van 29 slachthuizen op een totaal aantal van 61 slachthuizen. Omdat geen enkel slachthuis zelf kopvlees uitsnijdt, wil dat zeggen dat 32 slachthuizen koppen naar de destructiebedrijven sturen.

Voor de tweede fase (opmaken van het individuele bemonsteringsplan, zie punt 3.2.1.2.) raadt het Wetenschappelijk Comité aan een meer specifieke en vooral even gevoelige test te ontwikkelen en te gebruiken. De fluorescentie-ELISA test zou hiervoor in aanmerking kunnen komen maar die mogelijkheid moet grondiger worden onderzocht en er zijn nauwkeuriger gegevens vereist over de gevoeligheid en de specificiteit voor de beoogde toepassing (zie inleiding).

3.2.1.2. Evaluatie van het bemonsteringsplan (monstergrootte, bemonsteringsfrequentie, bemonsteringsprocedure)

Zoals in de inleiding vermeld is de prevalentie van de verontreiniging van koppen van runderen met CZS-weefsel in de verschillende slachthuizen en uitsnijderijen in België niet bekend. Dat gegeven is echter nodig om voor elk slachthuis een specifieke monstergrootte te kunnen bepalen.

Daarnaast vertoont de Ridascreen-test, die de enige test is die thans daarvoor in België wordt gebruikt, voor hetgeen men ervan afweet, een te geringe specificiteit om een onderscheid te kunnen maken tussen de kwaliteit van de slachtprocessen (reële prevalentie) in de verschillende slachthuizen³. Er moet wel een onderscheid kunnen worden gemaakt om eventueel correctieve maatregelen te kunnen voorstellen.

Om die twee redenen meent het Wetenschappelijk Comité dat het in de huidige omstandigheden onmogelijk is om voor elk slachthuis een specifiek bemonsteringsplan op te maken en dat dit geen relevante informatie zou aanleveren over de kwaliteit van de slachtprocessen in de verschillende slachthuizen.

³ Inderdaad, voor een verwachte prevalentie van 2% (zie studie van de ULg), een nauwkeurigheid van 0,5% en een populatiegrootte van 493 434 koppen is de monstergrootte die nodig is om de reële prevalentie te ramen ongeveer gelijk aan 3000 (WinEpiscopo simulatie om de reële prevalentie te bepalen bij middel van een test met een 100 % diagnosegevoeligheid en –specificiteit). Als men die 3000 monsters verdeelt over de 61 slachthuizen in België, heeft men een gemiddelde van 50 monsters per slachthuis (meer voor de grote en minder voor de kleine slachthuizen). Bij gebruik van een test met een specificiteit van 97,4% (veronderstelling) en een verwachte prevalentie van 2% (veronderstelling) zouden er per 50 monsters, 1,3 (of 2) vals positieve resultaten en 1 echt positief resultaat zijn (schijnbare prevalentie van 6%). Omdat het onmogelijk is om vals positieve en echt positieve resultaten van elkaar te onderscheiden, zal het ook niet mogelijk zijn om de reële prevalentie en de kwaliteit van de slachtprocessen in de slachthuizen te bepalen.

Men zou zich kunnen indenken om de verkregen schijnbare prevalenties te corrigeren voor de specificiteit en de gevoeligheid van de test. Dat kan echter alleen met een voldoende grote zekerheid worden geïnterpreteerd voor de slachthuizen met hoge schijnbare prevalenties (met de formule van Rogan-Gladen, bij een lage schijnbare prevalentie, van bijvoorbeeld 3%, een gevoeligheid van 97,9% en een specificiteit van 97,4% verkrijgt men een geraamde reële prevalentie van 0,42%, maar dan moet nog rekening worden gehouden met de onzekerheid). Een test met lage specificiteit kan dus alleen worden toegepast in slachthuizen met een grote prevalentie, iets wat niet vooraf bekend is.

Men zou zich ook kunnen indenken om de specificiteit van de Ridascreen-test verhogen door de cut-off waarde te wijzigen, maar dat zou gepaard gaan met een verlaging van de gevoeligheid van de test. Een onderzoek wordt erover aanbevolen.

Ook zou men zich kunnen indenken om de positieve monsters, die met de Ridascreen-methode werden verkregen, bevestigen met een histologische referentiemethode om de echt positieve resultaten te kennen. Voor de histologie moeten echter stukjes vlees als monster worden genomen, wat niet representatief is voor de oppervlakkige verontreiniging waarover het in dit advies gaat.

Het Wetenschappelijk Comité raadt anderzijds aan om een screening te doen om een globale prevalentie niveau van GFAP in het kopvlees in de Belgische slachthuizen te kunnen ramen.

Aangezien de resultaten van de screening niet zullen toelaten een individuele en voor ieder slachthuis specifieke prevalentie te bepalen (omwille van de lage specificiteit van de tests, zie opmerking hoger), zou deze screening gepaard moeten gaan met een individuele enquête met betrekking tot de slachtprocessen die in ieder slachthuis worden toegepast. Deze enquête zou moeten gebeuren aan de hand van een uitvoerige en voor België aangepaste checklist die al de kritische punten vermeldt voor de verontreiniging van kopvlees met CZS weefsel in de hele slachtlijn, tot aan de uitsnijderijen. Een tabel met de kritische punten is voorgesteld in **bijlage 3, kolommen A en B**. Voor een eventuele prevalentie studie zou een check list moeten opgesteld worden op basis van die tabel waardoor een goed inzicht kan verkregen worden van de kwaliteit van slachtprocessen in ieder slachthuis.

Pas nadat zekerheid bestaat omtrent de globale prevalentie in België (na screening) en nadat de risicofactoren zijn gekend (na enquête in elk slachthuis), kunnen voor elk slachthuis correlaties worden vastgesteld tussen prevalentie en aanwezigheid van risicofactoren. Voor elk slachthuis kan dan een risico niveau worden geschat. Daarna zou een individuele prevalentie voor ieder slachthuis kunnen worden bepaald op basis van het geschatte risico niveau. Op basis van deze individuele prevalentie, zou dan in een tweede fase een bemonsteringsplan kunnen worden toegepast, met een voor elk slachthuis aangepaste monstergrootte, en kunnen correctieve maatregelen eventueel worden overwogen.

Dat zou het ook mogelijk maken Odds ratios te berekenen aan de hand waarvan kan worden nagegaan welke risicofactor(en) de verontreiniging van de koppen beïnvloed(t)(en) en de meest relevante correctieve maatregelen te kunnen bepalen (zie punt 3.2.2.).

Het Wetenschappelijk Comité doet de volgende aanbevelingen in verband met de screening van CZS weefsel in de Belgische slachthuizen :

- met de Ridascreen test omdat het de enige test is die in België voor die toepassing wordt gebruikt, na de bepaling van een dusdanige cut-off waarde dat een optimale sensitiviteit en specificiteit worden bekomen, en nadat de verkregen prevalentie resultaten worden gecorrigeerd voor gevoeligheid en specificiteit,
- de bepaling van de grootte van het monster om de prevalentie van de verontreiniging in de verschillende slachthuizen te ramen werd vastgesteld met behulp van het programma WinEpiscope 2.0 waarbij rekening werd gehouden met een totale populatie van 493 434 geslachte dieren, een verwachte prevalentie van 2% (zie studie van de ULg), een nauwkeurigheid van 0,5 % en een betrouwbaarheidsniveau van 95%. De monstergrootte is gelijk aan 3012 monsters die ad random moeten worden verdeeld over de 61 slachthuizen, in verhouding tot hun capaciteit (**zie bijlage 2, kolom C**), d.w.z. zowel slachthuizen die zelf kopvlees uitsnijden of aan kanalisatie doen als slachthuizen die de koppen naar een destructiebedrijf sturen (zie punt 3.1.5). Voor kleine slachthuizen moet een minimum aantal monsters worden bepaald dat moet worden genomen (**zie bijlage 2, kolom C, slachthuizen 1 tot 16**). De monstergrootte is van dezelfde grootteorde als de door DG Controlebeleid in het kader van dit advies voorgestelde monstergrootte.
- dit moet éénmaal gebeuren en wel voordat correctieve maatregelen worden ingesteld om geen systematische fout aan te brengen in de studie.
- de bemonstering gebeurt gelijktijdig met de controle op de slachtprocessen
- de bemonstering gebeurt op het laatste moment, namelijk voor het verzenden (klaarmaken) van de koppen voor transport naar de uitsnijderij of het

- destructiebedrijf, om rekening te kunnen houden met alle (kruis-) besmettingen die zich in het slachthuis kunnen voordoen
- de koppen moeten ad random worden gekozen en de bemonsteringen moeten gespreid zijn over de hele dag en over de 5 dagen van de week.
 - nauwkeurige en eenvormige bemonsteringsprocedure om voor alle slachthuizen homogene, vergelijkbare en interpreteerbare monsters te verkrijgen. De bemonsteringsprocedure hangt af van de gebruikte analysemethode en staat beschreven in de bijsluiter van de fabrikant. Er wordt aanbevolen deze bijsluiter te raadplegen. Bij gebruik van de Ridascreen-methode zou met name de bemonstering als volgt moeten gebeuren :
 - o door dissectie van een oppervlak van 10 cm op 10 cm (100 cm²) met een chirurgische scalpel parallel aan het oppervlak van de kauwspier en opbergen ervan in een plasticzakje met etiket
 - o dit staal mag worden ingevroren aangezien het invriezen het resultaat van de analyse niet beïnvloed
 - o op de buitenzijde van de buitenkauwspier aan één kant en op de buitenzijde van de binnenkauwspier aan de andere kant⁴,
 - o de analyst voert het uitstrijkje uit op de beide oppervlakten en met hetzelfde wattenstaafje (één uitstrijkje per kop) in het laboratorium. Er dient opgemerkt te worden dat in de praktijk, de identificatie van de buiten- en binnenzijde van de kauwspieren niet gemakkelijk is. De analyst voert het uitstrijkje uit met een wattenstaafje die vooraf in de bufferoplossing (1 ml) is gedrenkt (zie kit) en vervolgens in de bufferoplossing terug geplaatst wordt zodat het weggenomen materiaal later kan uitgeschud worden in de bufferoplossing. Hij wrijft elke oppervlakte verticaal, horizontaal en vervolgens diagonaal gedurende ten minste 20 seconden.

Om een homogene bemonsteringsprocedure in alle slachthuizen te kunnen verzekeren, beveelt het Wetenschappelijk Comité aan dat deze bemonstering, alsook de controle van de slachtprocessen, wordt uitgevoerd door personen die een specifieke opleiding hebben gekregen.

Het Wetenschappelijk Comité wijst erop dat indien Verordening (EG) nr. 999/2001 geen bemonsteringsplan had opgelegd dat verplicht moest steunen op een laboratoriumtest, de toepassing van een plan slechts gebaseerd op een enquête betreffende de slachtprocessen en op aanbevelingen wellicht zou hebben volstaan om de kwaliteit van de slachtprocessen te verbeteren.

Volgens het Wetenschappelijk Comité zal het uitvoeren van een screening en van een enquête betreffende de slachtprocessen alsook het opmaken van een bemonsteringsplan voor de uitsnijderijen geen relevante informatie aanleveren vanwege het probleem van de onvermijdbare kruisbesmettingen en omdat elke uitsnijderij koppen binnenkrijgt die afkomstig zijn van slachthuizen met een gevalideerd bemonsteringsplan. Verordening (EG) nr. 999/2001 maakt echter melding van het instellen van een bemonsteringsplan in de uitsnijderijen. Als DG Controlebeleid moet voorzien in een bemonsteringsplan raadt het Wetenschappelijk Comité de volgende modaliteiten aan met betrekking tot de voorafgaande screening :

- omdat het vervoer van de koppen van het slachthuis naar de uitsnijderij een kritisch punt is (kruisbesmetting door contact tussen de koppen) wordt

⁴ Justificatie: van de kop worden zowel de buiten- als de binnenkauwspieren verzameld. Het kan verontreinigd worden door CSZ weefsel afkomstig uit, onder andere, de inschotopening en het *foramen magnum*.

- aanbevolen om het monster na het transport te nemen bij het binnenkomen in de uitsnijderij, voordat de kopvlees wordt uitgesneden,
- de monstergrootte moet onder de uitsnijderijen worden verdeeld op grond van hun respectieve capaciteiten.

3.2.1.3. Evaluatie van de voorgestelde grenswaarden voor de prevalentie

De notie van een grenswaarde voor de prevalentie moet niet worden toegepast op de voorafgaande screening die tot doel heeft gewoon een prevalentie te ramen, maar wel wanneer bemonsteringsplannen zullen worden toegepast in aansluiting op (en naargelang van) de resultaten van die screening, om te kunnen vaststellen in welke slachthuizen correctieve maatregelen moeten worden toegepast.

DG Controlebeleid stelt een aanvaardbare prevalentie voor van 2% (één positief resultaat per 50 monsters) waarbij de waarde van de resultaten kleiner is dan de waarde van de standard 0,4% (gematigde verontreinigingsgraad volgens Troeger *et al.*, 2004), vanaf dewelke wordt besloten dat er een probleem is in het slachthuis en dat correctieve maatregelen moeten worden toegepast.

Volgens het Wetenschappelijk Comité behoort de bepaling van de aanvaardbare prevalentie tot de bevoegdheden van de risicomanager. Die aanvaardbare prevalentie moet nochtans rekening houden met name met de specificiteit van de test. Als wordt besloten om de RIDASCREEN-test met een specificiteit van bijvoorbeeld 97,4% te gebruiken, betekent dit dat er automatisch 2,6 % vals positieve resultaten zullen zijn. De aanvaardbare prevalentie moet dus minimaal 2,6% zijn.

DG Controlebeleid stelt voor de RIDASCREEN test een cut-off waarde voor van 0,4%, wat volgens Troeger (2004) overeenkomt met een hoge verontreiniging. Het Wetenschappelijk Comité is van mening dat de cut-off waarde zou moeten worden vastgesteld door het laboratorium dat de tests uitvoert om zo de best mogelijke gevoeligheden en specificiteiten te kunnen verkrijgen.

3.2.2. Vraag 2 : Evaluatie van de correctieve maatregelen

Om deze vraag op optimale wijze te beantwoorden, geeft **bijlage 3** een samenvatting van de literatuur. Voor elk kritisch punt worden aanbevelingen voorgesteld om het risico voor verspreiding van CZS weefsel te voorkomen of te verkleinen en die aanbevelingen kunnen dienen als correctieve maatregelen. **Bijlage 3** vermeldt ook de relevantie en de praktische uitvoerbaarheid van deze correctieve maatregelen.

4. Conclusie

Het Wetenschappelijk Comité meent dat de toepassing van een bemonsteringsplan, vanwege de vermoedelijk te geringe specificiteit van de thans in België gebruikte ELISA Ridascreen test en gebrek aan gegevens over de huidige prevalentie van CZS-weefsel op het oppervlak van kopvlees in de Belgische slachthuizen, geen relevante informatie zal aanleveren over het kwaliteitsniveau van de slachtprocessen. Het zal niet mogelijk zijn een onderscheid te maken tussen de kwaliteitsniveaus van die slachtprocessen in de verschillende slachthuizen.

Het Wetenschappelijk Comité raadt daarom aan om in alle Belgische slachthuizen een voorafgaande screening met bemonstering uit te voeren samen met een enquête over de toegepaste slachtprocessen aan de hand van een exhaustieve checklist die alle kritische punten herneemt. Aan de hand van de bekomen gegevens

zal de correlatie tussen prevalentie en aanwezigheid van kritische punten in die slachthuizen bestudeerd worden en kunnen voor ieder slachthuis risicofactoren bepaald worden. Vervolgens zou, nadat het prevalentie niveau per slachthuis is ingeschat op basis van de aanwezige risicofactoren, een aangepast bemonsteringsplan kunnen worden opgemaakt om eventueel correctieve maatregelen vast te leggen.

Volgens het Wetenschappelijk Comité is het niet zinvol om voor uitsnijderijen een bemonsteringsplan in te voeren.

De opsporing kan gebeuren met behulp van de RIDASCREEN test, maar het Comité beveelt aan dat de analyses in de opstartfase zouden uitgevoerd worden door een referentie laboratorium om de homogeniteit van de resultaten te waarborgen, en na het op punt stellen en vastleggen van een cut-off waarde, waardoor een optimale sensitiviteit en specificiteit bekomen worden.

Er werden een exhaustieve lijst opgemaakt van kritische punten voor de verontreiniging van koppen en karkassen met CZS-weefsel in de slachthuizen en van aanbevelingen om het risico voor verontreiniging te verminderen, respectievelijk voor het uitvoeren van de controle op de slachtprocessen en voor de correctieve maatregelen.

Voor het Wetenschappelijk Comité,

Prof. Dr. Ir. André Huyghebaert
Voorzitter

Brussel, 15 oktober 2008

Referenties

Anil M.H., Love S., Williams S., Shand A., McKinstry J.L., Helps C.R., Waterman-Pearson A., Seghatchian J., Harbour D.A. Potential contamination of beef carcasses with brain tissue at slaughter. *Vet. Record*, **1999**, 145, 460-462.

Agazzi M.E., Barrero Moreno J.M., Lückner E., von Holst C. And Anklam E. Performance comparison of two analytical methods for the detection of tissues of the central nervous system in sausages: results of an interlaboratory study. *European Food Research and Technology*, **2002**, 215, 334-9.

Agazzi M-E., Barrero Moreno J., von Holst C., Lückner E. And Anklam E. Quantitative analysis of tissues of the central nervous system in food products by GFAP-ELISA test kit. Results of an interlaboratory study. *Food Control*, **2004**, 15, 297-301.

Avis 10-**2007** du Comité scientifique concernant l'évaluation du risque pour la sécurité alimentaire de la contamination de la viande de la tête par du tissu du système nerveux central chez les bovins (contexte ESB).

URL : http://www.afsca.be/home/com-sci/doc07/ADVIES10-2007_NL_DOSSIER2007_02.pdf

Biedermann W., Lückner E., Porschmann E., Lachhab S., Truyen U., Hensel A. Structural characterisation of some fatty acids from the brain as biomarkers of BSE risk material. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2004**, 379, 1031-8.

Bozzetta E., Nappi R., Ru G., Negro M., Maurella C., Caramelli M. Evaluation of an Enzyme Immunoassay for the detection of central nervous system tissue contamination at the slaughterhouse. *J. Food Prot.*, **2006**, 69 (9), 2289-2292.

Bülte M., Horlacher S. And Simon P. Validation of RIDASCREEN(r)Risk Material-Tests as a detection method for central nervous system in raw and processed food in comparison with the integrated detection method (INV) based on Westernblot. Study, Institute for Veterinart Food Science, Justus-Liebig-Universität Gießen, **2001**.

EFSA. Report of the EFSA Working Group on BSE risk from dissemination of brain particles in blood and carcass, 2004. Question N° EFSA-Q-2003-122. Annex to the EFSA Journal (**2004**) 123 on the opinion on BSE risk from dissemination of brain particles in blood and carcass following stunning.

Hajmeer M., Cliver D.O. and Provost R. Spinal cord tissue detection in comminuted beef: comparison of two immunological methods. *Meat Sci.*, **2003**, 65, 757-63.

Helps C.R., Hindell P., Hillman T.J., Fisher A.V., Anil H., Knight A.C., Whyte R.T., O'Niell D.H., Knowles T.G., and Harbour D.A. Contamination of beef carcasses by spinal cord tissue during splitting. *Food Control.*, **2002**, 13, 417-23.

Hossner K.L., Yemm R.S., Sonnenshein S.E., Mason G.L., Cummings B.A., Reddy M.C.S., Sofos J.N., Scanga J.A., Tatum J.D., Smith G.C. and Belk K.E. Comparison of immunochemical (Enzyme-linked immunosorbent assay) and immunohistochemical methods for the detection of central nervous system tissue in meat products. *J. of Food Prot.*, **2006**, 69, 644-50.

Love S., Helps C.R., Williams S., Shand A., McKinstry J.L., Brown S.N., Harbour D.A. and Anil M.H. Methods for detection of haematogenous dissemination of brain tissue after stunning of cattle with captive bolt guns. *J. Neurosci. Methods*, **2000**, 99, 53-8.

Lückner E. and Bulte M. Procedures for the detection of unwanted ingredients in meat products with regard to bovine spongiform encephalopathy (BSE). 1. Enzymatic analysis of cholesterol- a rapid procedure for the detection of central nervous tissue. *Fleischwirtschaft Int.*, **1998**, 3, 57-62.

Lücker E., Eigenbrodt E., Wenisch S., Failing K., Leiser R. And Bülte M. Development of an integrated procedure for the detection of central nervous tissue in meat products using cholesterol and neuron-specific enolase as markers. *J. Food Prot.*, **1999**, 62, 268-76.

Lücker E., Eigenbrodt E., Wenisch S., Leiser R. and Bülte M. Identification of central nervous system tissue in retail meat products. *J of Food Protection*, **2000**, 63, 258-63.

Lücker E., Hardt M. And Groschup M.H. Detection of CNS and PrPSc in meat products. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.*, **2002**, 115, 111-7

Lücker E., Schlottermüller B. And Martin A. Studies on contamination of beef with tissues of the central nervous system (CNS) as pertaining to slaughtering technology and human BSE-exposure risk. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.*, **2002**, 115, 118-21.

Lücker E., Biedermann W., Lachhab S., Truyen U. and Hensel A. GC-MS detection of central nervous tissues as TSE risk material in meat products: analytical quality and strategy. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2004**, 380, 866-70.

Moje M., Hoffman A., Troeger K., Jankowitsch H., Kolb R. Detection of tissue of the central nervous system on skinned cattle heads and in the right ventricle of cattle hearts after captive bolt stunning. *Jahresbericht der BAFF*, **2002**. Kulmbach, Germany : Bundesanstalt für Fleischforschung.

Prendergast D.M., Sheridan J.J., Daly D.J., McDowell D.A., and Blair I.S. Dissemination of central nervous system tissue from the brain and spinal cord of cattle after captive bolt stunning and carcass splitting. *Meat Science*, **2003**, 65, 1201-9.

Ramantanis S.B. Cattle slaughtering and BSE risks Part I. Potential dissemination of CNS tissue during slaughtering. *Vet. Bull.*, **2004**, 74 (3), 1N-13N

Ramantanis S.B. Cattle slaughtering and BSE risks Part II: Alternative and/or additional means of preventing and/or minimizing the dispersal of CNS material during slaughter. *Vet. Bull.*, **2004**, 74 (6) , 15N-26N

Ramantanis S.B. Alternative cattle slaughtering technologies and/or measures reducing the dissemination of central nervous system tissue during head handling, harvesting of cheek meat and tongue and carcass splitting – a review. *Vet. Arch.*, **2006**, 76, 19-36.

Seyboldt C., John A., von Mueffling T., Nowak B. and Wenzel S. Reverse transcription-polymerase chain reaction assay for species-specific detection of bovins central nervous system tissue in meat and meat products. *J Food Prot.*, **2003**, 66, 644-51

Schmidt G.R., Hossner K.L., Yemm R.S., Gould D.H., and O'Callaghan J.P. An enzyme-linked immunosorbent assay for glial fibrillary acidic protein as an indicator of the presence of brain or spinal cord in meat. *J. Food Prot.*, **1999**, 62, 394-7.

Schmidt G.R., Yemm R.S., Childs K.D., O'Callaghan J.P., Hossner L. The detection of central nervous system tissue on beef carcasses and in comminuted beef. *Journal of Food Protection*, **2001**, 64 (12), 2047-2052.

Schmidt G.R., Yemm R.S., Childs K.D., O'Callaghan J.P. and Hossner K.L. Verification of different glial fibrillary acidic protein analyses as accurate detectors of central nervous system tissue in advanced meat recovery products. *Meat Science*, **2002**, 62, 79-84.

Schönenbrücher H., Abdulmawjood A., Göbel K.A. and Bülte M. Detection of central nervous system tissues in meat products: validation and standardisation of a real-time PCR-based detection system. *Vet. Microbiol.*, **2007**, 123, 336-45.

Schwägele F., Moje M., Troeger K. and Honikel K.O. Detection of central nervous system (CNS) tissue on cattle carcasses after sucking off the spinal cord tissue and splitting. 48th International Congress of Meat Science and Technology, Rome, **2002**, 2, 958-9.

Troeger K. Overview of current and alternative slaughter practices. Biotechnol. Agron. Soc. Environ., **2004**, 8, 275-81.

Wenisch S., Lucker E., Eigenbrodt R., Leiser R. and Bulter M. Detection of central nervous tissue in meat products: an immunohistochemical approach. Nutr. Res., **1999**, 19, 1165-72.

Leden van het Wetenschappelijk Comité

Het Wetenschappelijk Comité is samengesteld uit de volgende leden :

V. Baeten, D. Berkvens, C. Bragard, J.P. Buts, P. Daenens, G. Daube, J. Debevere, P. Delahaut, K. Dewettinck, K. Dierick, R. Ducatelle, L. Herman, A. Huyghebaert, H. Imberechts, J. Lammertyn, G. Maghuin-Rogister, L. Pussemier, C. Saegerman, B. Schiffers, E. Thiry, J. Van Hoof, C. Van Peteghem.

Wegens een onverenigbaarheid namen de volgende leden van het Wetenschappelijk Comité niet deel aan de bespreking over de goedkeuring van het advies : G. Daube et P. Delahaut.

Dankbetuiging

Het Wetenschappelijk Comité dankt het wetenschappelijk secretariaat en de leden van de werkgroep voor de voorbereiding van het ontwerpadvies. De werkgroep was samengesteld uit :

Leden Wetenschappelijk Comité	D. Berkvens (verslaggever), J. Van Hoof, C. Saegerman, G. Maghuin Rogister
Externe experts	N. Korsak (ULg), L. De Zutter (UGent)

Wettelijk kader van het advies

Wet van 4 februari 2000 houdende oprichting van het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen, inzonderheid artikel 8;

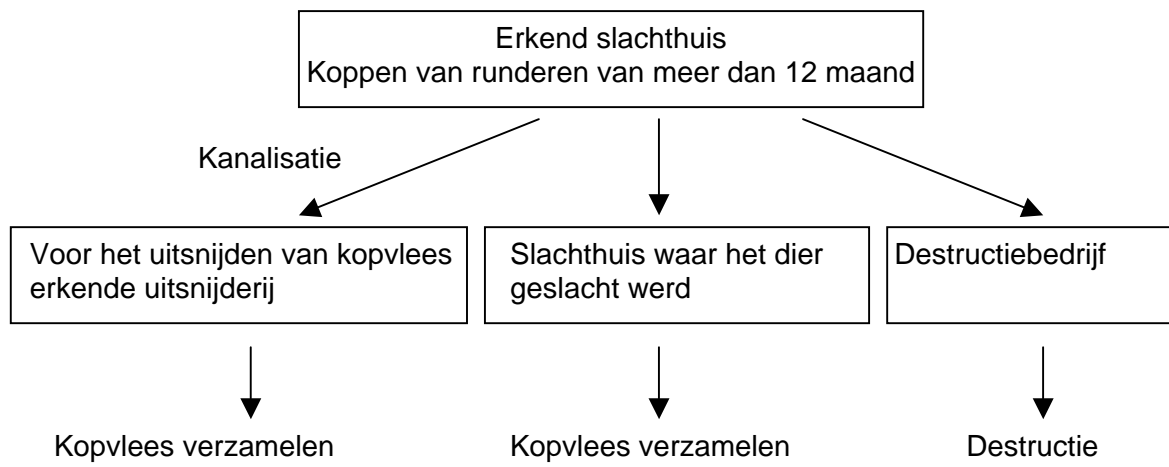
Koninklijk besluit van 19 mei 2000 betreffende de samenstelling en de werkwijze van het Wetenschappelijk Comité ingesteld bij het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen;

Huishoudelijk reglement bedoeld in artikel 3 van het koninklijk besluit van 19 mei 2000 betreffende de samenstelling en de werkwijze van het Wetenschappelijk Comité ingesteld bij het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen, goedgekeurd door de Minister op 27 maart 2006.

Disclaimer

Het Wetenschappelijk Comité behoudt zich, te allen tijde, het recht voor dit advies te wijzigen indien nieuwe informatie en gegevens ter beschikking komen na de publicatie van deze versie.

Bijlage 1. Circuits die zijn toegestaan om kopvlees te verzamelen van runderen die ouder zijn dan 12 maand.



Bijlage 2.**a. Aantal en capaciteit van de Belgische slachthuizen in 2007.**

A	B	C
Slachthuizen	Capaciteit (aantal runderen > 12 maand die per jaar per slachthuis worden geslacht)	Op hogere eenheid afgeronde minimale monstergrootte (aantal koppen)
1	22	3
2	23	3
3	23	3
4	31	3
5	44	3
6	45	3
7	49	3
8	49	3
9	52	3
10	73	3
11	75	3
12	76	3
13	117	3
14	225	3
15	248	3
16	281	3 ⁵
17	363	3
18	435	3
19	486	3
20	565	4
21	630	4
22	926	6
23	1160	8
24	1256	8
25	1267	8
26	1454	9
27	1509	10
28	2080	13
29	2300	14
30	2845	18
31	2876	18
32	3651	23
33	4263	26
34	4807	30
35	4987	31
36	5058	31
37	5536	34
38	6610	41
39	6652	41

⁵ De waarden "3" die zijn vermeld voor slachthuizen 1 tot 16 worden als minimale monstergrootte voorgesteld vanwege de geringe capaciteit van die slachthuizen.

40	7575	17
41	8341	51
42	8591	53
43	8923	55
44	10432	64
45	10976	67
46	12118	74
47	12706	78
48	14006	86
49	14471	88
50	16222	99
51	18772	115
52	22515	137
53	23899	146
54	24183	148
55	25434	155
56	27301	166
57	28583	174
58	31276	191
59	33380	203
60	33797	206
61	36784	224
Totaal aantal runderen > 12 maand	493 434	
Totaal aantal slachthuizen	61	
Monstergrootte		3000

b. Aantal en capaciteit van de erkende Belgische uitsnijderijen voor het uitsnijden van kopvlees in 2007.

A	B
Erkende uitsnijderijen	Capaciteit (per jaar aantal uitgesneden koppen) (! Geen onderscheid naar leeftijd)
1	0
2	0
3	0
4	0
5	0
6	26447
7	45515
8	± 120000
9	200490
Totaal aantal koppen van runderen	392452
Totaal aantal uitsnijderijen	9

Bijlage 3. Uitgebreide checklist van kritische punten voor de verontreiniging van koppen en karkassen van runderen met weefsel van het centrale zenuwstelsel (CZS) in slachthuizen en aanbevelingen (Ramantanis *et al.*, 2004 a en b, Ramantanis *et al.*, 2006, Troeger *et al.*, 2004).

De relevantie de uitvoerbaarheid van de aanbevelingen voor België zijn gekwantificeerd (0, +, ++ ou +++).

A	B	C
Stadium van de slachtlijn	Kritische punten (risico voor verontreiniging van de kop of van het karkas)	Aanbevelingen (correctieve maatregelen)
A. Verdoven met een slachtpistool met vangstaaf		<i>Relevantie en praktische uitvoerbaarheid in België : 0, +, ++, +++</i>
	Naar buiten komen van CZS-deeltjes door inschotopening en verspreiding op de grond, de uitrusting, het personeel en overal in het slachthuis bij verplaatsingen van het personeel	Ondoordringbare stop (++++)
	Verspreiding van CZS-deeltjes in de bloedsomloop (in aders, dan in hart, dan in longen) en als de deeltjes klein genoeg zijn, in slagaders en in hele karkas	Verdoving met niet-penetrerend toestel (bijvoorbeeld door concussie (vermindert het risico maar doet het niet verdwijnen, EFSA, 2004), elektronarcose (problemen in verband met dierenwelzijn, niet goedgekeurd in België) of verbloeden zonder verdoving (Halal, problemen in verband met dierenwelzijn) (0)
	Verontreiniging van het slachtpistool en van de dieren die daarna worden verdoofd	
B. Kop hanteren		
	Verontreiniging van de handen van het slachthuis personeel	
	Oogbeschadiging	Geen vlees verzamelen van koppen waarvan de ogen beschadigd zijn; de koppen onmiddellijk verwijderen na de post mortem keuring (++++)
B1. Onthuiding van de kop	Verspreiding van CZS-deeltjes door inschotopening en verontreiniging van het vleesoppervlak, van de uitrusting, van het personeel	Verdoving met niet-penetrerend toestel (0) Mechanisch onthuiden van de kop voordat de kop wordt verwijderd, gelijktijdig met het onthuiden van het karkas (++++)

B2. Kop verwijderen	Verontreiniging van het karkas (nekvlees) en/of van de volgende karkassen door het mes als gevolg van het doorsnijden van het ruggenmerg	Een mes, uitsluitend voor het afsnijden van de kop; tussen ieder dier het mes goed mechanisch reinigen (+++)
		Ruggenmerg het laatst doorsnijden (na nekspieren en kop) (+++)
		Een speciaal mes om het gewricht en het ruggenmerg door te snijden (++)
		De afgesneden koppen onmiddellijk naar een afzonderlijke ruimte brengen en ze daar schoon te maken (om te voorkomen dat CZS gecontamineerd water op ander vlees terecht komt) (++)
		Ander mes om nekspieren te versnijden (+++)
		Afzonderlijk sterilisatiemateriaal voor messen die worden gebruikt om GRM te verwijderen (++)
	Verontreiniging van het vlees van de nek door lekkende hersen-ruggenmergvloeistof, ruggenmerg en/of hersenmateriaal door het foramen magnum	Ondoordringbare, duurzame en anatomisch (grootte, vorm van het foramen magnum) aangepaste stop (+++)
		Bemonstering voor BSE onmiddellijk uitvoeren voordat de stop wordt ingebracht zodat die niet moet worden weggehaald of het <i>foramen magnum</i> onmiddellijk na de bemonstering sluiten (+++)
		Verontreinigd vlees verwijderen met een schoon wegwerpmes (0)
		Liever niet op tafels werken ; als de monstername van het hersenen gebeurt op een tafel, de kop op een éénmalig te gebruiken plastic leggen (++)
		Onnodig hanteren vermijden (bijvoorbeeld koppen omdraaien) (+++)
B3. Hoornen verwijderen	Lekkend hersenmateriaal als de hoornen te dicht bij de schedel worden afgesneden	Hoornen verwijderen zonder schedelholte open te maken (+++)
B4. Kop wassen	Aërosol en verontreiniging van de uitrusting, de omgeving, het personeel en de karkassen	In een afzonderlijke ruimte wassen en zeker niet in de nabijheid van karkassen (++)
		Ondoordringbare stoppen (+++)
		Reinigen met een lage druk (+++)

		Binnenkant van de kop reinigen en reiniging van de buitenkant beperken om verspreiding van deeltjes op het oppervlak van het vlees te vermijden (+)
		Na het afzetten de kop steeds met de neus naar boven houden en ophangen (+++)
		De kop inspecteren in het waslokaal ; voor elk dier een schoon mes (++)
	Verontreiniging van het spoelwater	Spoelwater apart verzamelen en vernietigen (0)
C. Weefsels verzamelen (vlees van wangen en tong)		
C1. Transport naar uitsnijderij	Als koppen zijn verzameld in een kooi, kruisbesmetting van oppervlak van de koppen door contact tussen koppen bij schokken	Verbieden de koppen samen in kooien te transporteren (+++)
	Koppen die met haken in meerdere lagen zijn opgehangen op een transportrek: verspreiding van druppeltjes op de grond en verontreiniging van de omgeving, en kruisbesmetting door lekkage uit diverse openingen van bovenste naar onderste lagen	Transport van koppen steeds met de neus naar boven gehouden en aan transportrek opgehangen, naast elkaar en zonder contact en niet boven elkaar (+++)
		Opvangbak onder de koppen (+++)
		Ondoordringbare stoppen (+++)
		Visuele inspectie van de koppen voordat ze worden verzameld (tekenen van verontreiniging, beschadiging (ogen), stoppen) (+++)
C2. Tong uitsnijden	Kruisbesmetting vanaf het foramen magnum en vanaf de amandelen	Een deel van de tong verzamelen (« <i>short tongue</i> ») door dwars doorsnijden voor de processus lingualis van het basihyoid met een schoon en alleen daarvoor bestemd mes (+++)
C3. Wangvlees verzamelen		Messen mechanisch reinigen vooraleer sterilisatie met warmte (+++)
		Geen vlees verzamelen van koppen die niet aan de hierboven vermelde voorwaarden voldoen (+++)
D. Karkas splijten en verder behandelen		

D.1. Wervelkolom in de lengte splijten met een zaag	Openen van de mergholte en gevaar van doorsnijden van het ruggenmerg met als gevolg verontreiniging van het karkas (vooral aan de binnenkant), de omgeving, het spoelwater en de uitrusting en de handen van het personeel wat kan leiden tot kruisbesmetting van de volgende karkassen	Ruggenmerg vacuüm opzuigen voordat het karkas wordt gespleten, met een PVC-slang (zie D.2.) waarvoor een andere zuiger nodig is dan die voor de andere delen van het karkas; nadelen: in 1/3 van de gevallen blijven stukjes merg in de holte; gevaar voor doorboren van de dura mater (++)
		Na elk karkas andere handschoenen aantrekken en uitrusting ontsmetten (0)
	Gevaar voor verontreiniging van de karkassen bij het met de hand verwijderen van het ruggenmerg en het opzuigen van resten na het splijten	Geschikte infrastructuur waarmee verspreiding van deeltjes door spatten en waterstralen wordt vermeden (++)
	Onvolledige verwijdering van het ruggenmerg	Gebruik van een systeem voor paramediaan splijten met behulp van een zaag met twee evenwijdige bladen of een cilinderzaag die de wervels volledig verwijdert zonder de mergholte te openen; nadeel: doorsnijden van de achterwortelganglia en de zenuwwortels ter hoogte van de tussenwervelopeningen (++)
		Karkas uitbenen zonder het te splijten (0)
D.2. Karkas wassen en versnijden	Verontreiniging van het karkas en de uitrusting door zaagresten en kruisbesmetting van buurkarkassen	Zaagresten vacuüm opzuigen (+)