



FRONT OFFICE VOEDSEL- EN PRODUCTVEILIGHEID

Beoordeling verlenging 'Ten minste Houdbaar Tot' (THT)-termijn van eieren

Risicobeoordeling aangevraagd door:	NVWA-BuRO
Risicobeoordeling opgesteld door:	RIVM
Datum aanvraag:	29-06-2016
Datum risicobeoordeling:	18-12-2016 (definitief)
Projectnummer:	V/090130

Onderwerp

Met de eierensector is er momenteel discussie over het verlengen van de THT-termijn (ten minste houdbaar tot) voor eieren die voor export bestemd zijn. Dit gebeurt al jaren maar is t.a.v. voedselveiligheidsaspecten niet onderbouwd en ook niet opgenomen in de hygiëncode voor pakstations (verantwoordelijk voor THT). Een en ander wordt nu recht gezet en zal alsnog in de (nationale) hygiëncode opgenomen moeten worden. De NVWA moet deze beoordelen en van advies voor de minister voorzien voordat deze de code goed zal keuren.

Vraagstelling

Vragen van de NVWA:

1. Levert de verlenging van de THT-termijn van eieren tot maximaal een half jaar een substantieel risico op voor de voedselveiligheid in vergelijking met een THT-datum van 28 dagen? Is er een omslagpunt te benoemen (bijvoorbeeld tot 3 maanden na-genoeg geen extra risico daarna wel?).
2. Elementen die in het antwoord moeten worden meegenomen: Omstandigheden die in acht moeten worden genomen als verlenging wordt overwogen (bijvoorbeeld een constante koeltemperatuur van x graden).

Conclusies

Antwoord op vraag 1

- Verlenging van de THT-termijn van consumptie-eieren van 28 dagen ((EG) Nr 589/2008) naar maximaal 180 dagen zonder aanvullende voorwaarden geeft een verhoogd risico voor de voedselveiligheid.
- Het verhoogde risico geldt vooral voor uitgroei van *Salmonella* Enteritidis (*S. Enteritidis*) in inwendig besmette eieren en, in mindere mate, voor het risico op een na-besmetting met elk willekeurig *Salmonella* serotype als gevolg van onvoldoende hygiëne.
- Er is geen literatuur gevonden over de mate van verhoging van de microbiologische risico's verbonden aan eieren bij verlenging van de houdbaarheidstermijn van 28 naar 180 dagen.
- Er is sprake van een omslagpunt waarbij een verhoogd risico op uitgroei van *S. Enteritidis* in inwendig besmette eieren optreedt. Op het omslagpunt is de impermeabiliteit van de Yolk Membrane dusdanig afgenomen dat dooiermate-



riaal beschikbaar komt voor uitgroei van Salmonella. Waar dit omslagpunt ligt, is afhankelijk van de temperatuur waarbij eieren worden bewaard. Het omslagpunt kan bij kamertemperatuur al bereikt worden binnen de huidige THT-termijn van 28 dagen.

- Na het omslagpunt is er sprake van een verhoogd risico op een hogere prevalentie van met Salmonella (na-)besmette eieren en van een verhoogd risico op (vroeg) besmette eieren waarin *S. Enteritidis* is uitgegroeid tot hoge aantallen. Mogelijk dragen veranderingen in de mate van virulentie van Salmonella na het omslagpunt ook bij aan een verhoogd voedselveiligheidsrisico.

Antwoord op vraag 2

- Een verlengde THT-termijn van 180 dagen is mogelijk indien aan de volgende voorwaarden wordt voldaan:
 - o Eieren worden bewaard bij een constante temperatuur waarbij Salmonella niet kan groeien in dooiermateriaal. Onduidelijk is welke temperatuur dat moet zijn, maar deze zal in ieder geval lager zijn dan 10°C.
 - o Nabesmetting wordt voorkomen.

Inleiding

Tafeleieren die bestemd zijn voor consumenten en die verhandeld worden binnen Europa hebben een THT-termijn van 28 dagen zoals wordt genoemd in de Vo (EG) Nr. 589/2008), een THT-termijn die volgens RL (EG) Nr. 2000/13 echter uitsluitend geldt voor eindgebruikers (consumenten) en op het etiket dient te worden vermeld. Voor eieren bestemd voor de eiproductenindustrie binnen Europa is geen wettelijke THT-termijn vastgesteld.

In de eerstgenoemde Vo (EG) Nr. 589/2008 wordt daarnaast voor "eieren voor uitvoer naar derde landen" een ontheffing gegeven voor alle eisen inzake kwaliteit, merking en etikettering, of worden aanvullende eisen gesteld. Voor export naar derde landen is derhalve geen wettelijke THT-termijn bepaald, onafhankelijk of men spreekt over tafeleieren of voor eieren bestemd voor de eiproductenindustrie.

Eieren vormen een nutriëntrijke bron en daarmee een potentieel reservoir voor bacteriën. In Europa (EFSA, 2014) en de Verenigde Staten van Amerika (Hope *et al*, 2002) worden de meeste ei-gerelateerde voedseluitbraken in verband gebracht met Salmonella. Ook in Nederland worden ei-gerelateerde voedselinfecties in verband gebracht met Salmonella, en dan met name met *Salmonella enterica subspecies enterica* serovar Enteritidis (*S. Enteritidis*; Bolder *et al*, 2015). In 2013 zijn in Nederland door de NVWA 1350 poolmonsters (10 eieren per poolmonster) onderzocht op Salmonella. In twee (0,15%) van deze monsters werd *S. Enteritidis* aangetoond. Concentraties zijn niet bepaald. De EFSA (2014) heeft in haar "Scientific opinion on the public health risks of table eggs due to deterioration and development of pathogens" op basis van modelberekeningen geconcludeerd dat verlenging van de uiterste verkoopdatum (sell-by date) tot 42 dagen en een THT termijn (best before date) van 70 dagen leidt tot een verhoogd volksgezondheidsrisico, een risico dat beperkt kan worden door gekoelde opslag.

Een absoluut risico wordt niet gegeven, maar ten opzichte van het huidige risico bij een THT termijn van 28 dagen wordt bij verlenging van de THT termijn naar 42 dagen door de EFSA geschat dat het relatieve risico ongeveer een factor 3 toeneemt, waarbij de volgende kanttekening wordt geplaatst: "The uncertainties associated to the assumptions made and to the data used in this assessment will affect the absolute estimates of the

risk. The combined effect of all the uncertainties is difficult to measure, but nevertheless the absolute risk estimates should be used with caution.”

Besmetting van eieren

Besmetting van eieren kan vroeg plaatsvinden tijdens de vorming van een ei vanuit een besmet reproductieorgaan van de leghen (verticale transmissie). Deze route die leidt tot inwendig besmette eieren geldt specifiek voor *S. Enteritidis*. Na de leg kunnen eieren ook uitwendig (horizontale transmissie) vanuit de stalomgeving (feces, grond) of later tijdens verpakken en opslag door onvoldoende hygiëne besmet raken. Uitwendig besmette eieren kunnen in tweede instantie ook inwendig besmet raken. *Salmonella* is beweeglijk en bovendien kan een snelle en vooral directe koeling van eieren na de leg zorgen voor een onderdruk in eieren waardoor (besmette) lucht of vocht in het ei wordt gezogen (Perry en Yousef, 2012). De horizontale, uitwendige besmettingsroute is niet specifiek voor *S. Enteritidis*, ook andere *Salmonella* serotypen of andere bacteriesoorten kunnen via deze route eieren besmetten. In reviews van Gantois *et al* (2009) en Perry en Yousef (2012) wordt gesteld dat in het geval van eieren besmet met *S. Enteritidis* de verticale transmissieroute het belangrijkste is.

Op uitwendig besmette eieren neemt vanwege een gebrek aan nutriënten het aantal *Salmonella* af in de tijd (Park *et al*, 2015; McAuley *et al*, 2015). Afsterving vindt het snelst plaats bij relatief hoge temperatuur (sneller bij 25°C dan bij 12°C of 4°C) en bij hoge relatieve luchtvochtigheid (RH) (Park *et al*, 2015). Mest kan een bron van *Salmonella* zijn en daarnaast beschermt mest ook op de schaal aanwezige *Salmonella* (vanuit bijvoorbeeld stof) tegen afsterven (Park *et al*, 2015). Door McAuley *et al* (2015) wordt een 4 log reductie gerapporteerd binnen vier weken, ongeacht de temperatuur (4 of 22°C) en relatieve vochtigheid (RH >88% of 38-55%). Park *et al* (2015) laten zien dat in afwezigheid van feces binnen 7 dagen een 5 log reductie bereikt kan worden bij 4°C en een RH van 85%.

De eierschaal met cuticulum (dun organisch laagje aan de buitenkant van het ei) vormt de eerste barrière voor micro-organismen die van buitenaf een ei kunnen besmetten. De eierschaal bevat poriën met een diameter van 9 (Musgrove, 2011) tot 65 µm (DeReu *et al*, 2006), groot genoeg om bacteriën door te laten. Het cuticulum sluit de poriën echter af. Toch kunnen bacteriën, vooral Gram -negatieve, beweeglijke bacteriën (waaronder *S. Enteritidis*), de eierschaal penetreren (DeReu *et al*, 2006). Van meerdere serovars van *S. enterica*, waaronder *Typhimurium* (Whiley *et al*, 2015; 2016) en *Infantis* (Lublin *et al*, 2015), maar niet *Virchow* (Lublin en Sela, 2008), is aangetoond dat zij in staat zijn de eierschaal te penetreren. De permeabiliteit van de schaal is maximaal gedurende de eerste uren na de leg (voor reviews: Gantois *et al*, 2009; Zhang *et al*, 2011; Whiley en Ross, 2015).

Bacteriële groei in eieren

Zoals hierboven beschreven kunnen diverse serotypen van *Salmonella* de eierschaal penetreren. Tot twee weken na penetratie kon *S. Enteritidis* aangetoond worden in uitwendig besmette eieren die bewaard werden bij 25°C. Na meer dan twee weken opslag bij 25°C en in eieren die bij 6°C waren bewaard kon inwendig in het mengsel van eiwit en eigeel geen *S. Enteritidis* worden aangetoond (Lublin en Sela, 2008).

Diverse studies laten zien dat ei-specifieke anti-microbiële factoren aanwezig in membranen en albumine de bacteriële groei (ook van *S. Enteritidis*) verhinderen en zorgen voor afsterving (behalve van *S. Enteritidis*) tijdens bewaren (Kang *et al*, 2006; Humphrey en Whitehead, 1993; McAuley *et al*, 2015). Echter, andere studies geven een afwijkend beeld en laten zien dat *S. Enteritidis* (Chen *et al*, 2005, Schoeni *et al*, 1995), *S. Heidelberg*

berg en *S. Typhimurium* (Schoeni *et al*, 1995) wel kunnen groeien in albumine en/of dat andere serovars overleven. Groei van *Salmonella* in albumine kan dus niet uitgesloten worden.

De hoge pH van het albumine en de aanwezigheid van immunoglobulinen, anti-protease activiteit, lysozym, DNA nuclease activiteit en ovotransferrine, een ijzer-chelerende verbinding in het albumine, behoren tot ei-specifieke antimicrobiële factoren (voor reviews: Gantois *et al*, 2009; Zhang *et al*, 2011). Een specifiek O-antigen en de activiteit van DNA-repair enzymen behoren o.a. tot de *S. Enteritidis* specifieke eigenschappen die een rol spelen bij overleving in albumine.

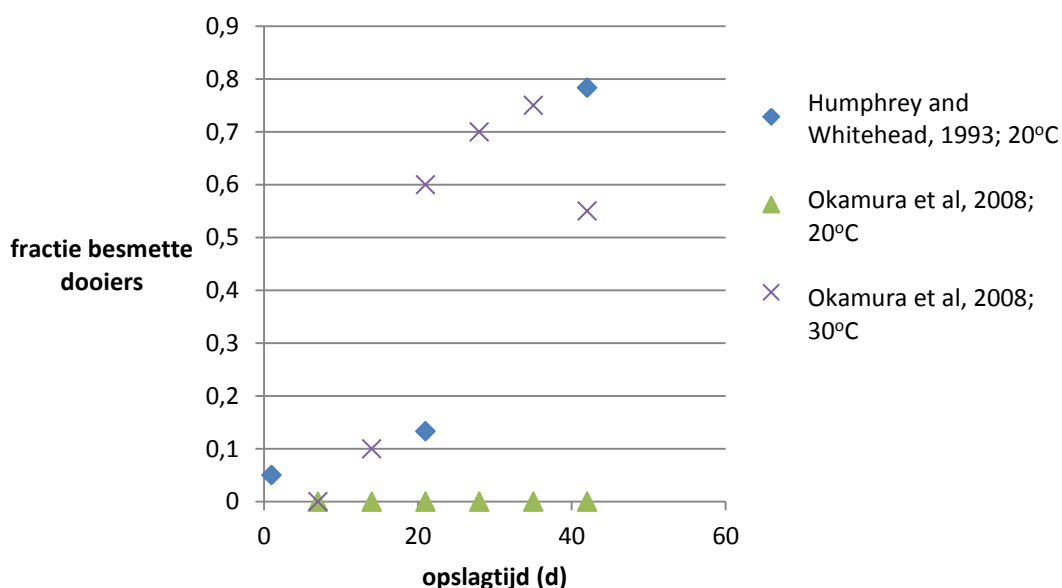
De interactie tussen albumine en *Salmonella* is complex. De initiële (eerste paar dagen) anti-microbiële activiteit van albumine (Rehault-Godbert *et al*, 2010) en de groeisnelheid van *Salmonella* zijn temperatuursafhankelijk. Beide worden in de eerste paar dagen hoger naarmate de opslagtemperatuur hoger is in het traject tussen 4 en 37°C. Deze temperatuursafhankelijkheid van de initiële anti-microbiële activiteit in albumine heeft waarschijnlijk te maken met het gedeeltelijk enzymatisch karakter ervan. Naast de temperatuur is ook de opslagtijd van invloed op de anti-microbiële activiteit. Dit komt o.a. door pH stijging tijdens de opslag en de afbraak van ijzer chelerend ovotransferrine, zowel in albumine als in de vitelline membraan, waardoor ijzer vrijkomt voor groei van *Salmonella*. Ook deze processen zijn temperatuursafhankelijk. Op de langere termijn (enkele weken) geldt dat bij een lage opslagtemperatuur het vermogen van albumine om groei van *Salmonella* te onderdrukken langer intact blijft (Rehault-Godbert, 2010: 4°C; Chen *et al*, 2005: <10°C). Ook de vitelline membraan blijft langer intact bij lagere temperatuur (4>10>22°C; Chen *et al*, 2005). De mogelijkheid tot uitgroei in albumine lijkt af te hangen van het initiële besmettingsniveau (Cogan *et al*, 2001). Ook Kim *et al* (1989) rapporteerden dat bij een lage besmetting van het albumine na 30 dagen bij 4°C geen groei waarneembaar was van *Salmonella* in albumine, maar dat bij een hogere mate van besmetting er wel groei waarneembaar was na 30 dagen bij 4°C. Chen *et al* (2005) laten echter zien dat ongeacht het initiële besmettingsniveau van albumine (10² tot 10⁶ KVE per ei), *S. Enteritidis* langzaam afsterft bij 4°C. Dat de kans op uitgroei in albumine afhankelijk zou zijn van het initiële besmettingsniveau is dus niet zonder discussie. Voor reviews zie Gantois *et al* (2009) en Zhang *et al* (2011).

De minimale temperatuur waarbij *Salmonella* kan groeien is afhankelijk van de groeiomstandigheden. Een groot aantal studies naar de groei van bacteriën in eieren is uitgevoerd in *in vitro* modellen, waarbij groei in afzonderlijk eiwit of dooiermateriaal is bestudeerd. In dooiermateriaal groeit *S. Enteritidis* bij 25°C binnen één dag uit van 10² naar 10⁶ - 10⁷ kolonie vormende eenheden (KVE) per ml. Ook bij 10°C is nog steeds groei waarneembaar na drie dagen (uitgroei naar ca. 10³ KVE per ml), maar deze is sterk beperkt ten opzichte van 17,5 of 25°C (bij beide temperaturen na drie dagen: > 10⁸ KVE per ml; Gast en Holt, 2000). In het albumine was in hetzelfde modelsysteem bij 10°C geen groei waarneembaar na drie dagen incuberen. In kunstmatig met *S. Enteritidis* besmet, vacuüm verpakt dooiermateriaal (10³ KVE per gr), opgeslagen bij 7°C, kon na ca 50 dagen geen groei worden vastgesteld (Gumudavelli *et al*, 2007). Voor reviews, zie Guard-Petter (2001) en Gantois *et al* (2009).

Om in eieren uit te kunnen groeien tot hoge aantallen zal *S. Enteritidis* moeten kunnen beschikken over dooiermateriaal. De vitelline membraan die de dooier omgeeft (yolk membrane, YM) is aanvankelijk echter zowel voor dooiermateriaal als voor *Salmonella* impermeabel. De impermeabiliteit van de YM neemt af in de tijd en de snelheid hiervan is afhankelijk van de temperatuur (Humphrey en Whitehead, 1993; Okamura *et al*, 2008) (zie Figuur 1). *In vitro* is gekeken naar migratie vanuit albumine naar de dooier. In een ei-model is aangetoond dat bij 10°C binnen 24h migratie kan plaatsvinden vanuit albumine naar de dooier (Gast *et al*, 2010), maar of dit ook *in vivo*, in hele intacte eieren net zo snel gebeurt, is niet waarschijnlijk. In een beperkt aantal andere studies is in intacte eie-

ren de groei van bacteriën bestudeerd (Humphrey en Whitehead, 1993; Schoeni *et al*, 1995; Cogan *et al*, 2001; Chen *et al*, 2005; Okamura *et al*, 2008).

In Figuur 1 wordt het verloop van de fractie met *S. Enteritidis* besmette dooiers weergegeven tijdens opslag, na inoculatie van het albumine volgens Humphrey en Whitehead (1993) en Okamura *et al* (2008). De resultaten van deze twee studies zijn niet direct vergelijkbaar. Okamura *et al* (2008) inoculeren (20-47 KVE/ei) in het albumine van verse eieren en bewaren geïnoculeerde eieren gedurende zes weken (simulatie van vroeg besmette eieren). Humphrey en Whitehead (1993) bewaren verse eieren en inoculeren (500 KVE/ei) deze na verloop van tijd om vijf dagen na inoculatie een besmetting van de dooier te bepalen (simulatie van late besmetting). Afhankelijk van de ouderdom van eieren neemt in de studie van Humphrey en Whitehead (1993) het initiële aantal *Salmonella* een factor 5 (in 1 week oude eieren) tot een factor 40 (in vier weken oude eieren) toe. Mogelijk dat het verschil in resultaat bij opslag bij 20°C het gevolg is van een verschil in besmettingsniveau en antimicrobiële activiteit in albumine waar *S. Enteritidis* in het geval van Okamura *et al* (2008) gedurende de gehele opslagtijd aan is blootgesteld, terwijl in de experimenten van Humphrey en Whitehead (1993) *S. Enteritidis* slechts gedurende maximaal vijf dagen is blootgesteld aan antimicrobiële activiteit in het albumine. Ook zijn andere stammen gebruikt, stammen met mogelijk een verschil in mate van resistentie tegen de antimicrobiële activiteit in albumine.

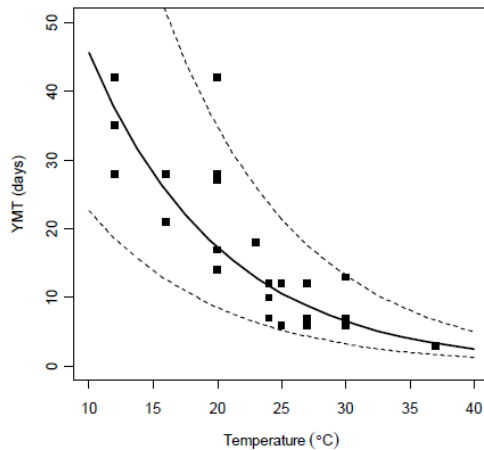


Figuur 1. Verloop van de fractie besmette dooiers in eieren die in het albumine waren besmet met *S. Enteritidis*.

Chen *et al* (2005) laten het verloop van het aantal *S. Enteritidis* (in heel ei) zien tijdens opslag bij 22°C in eieren die in week één waren besmet (in albumine) met een cocktail van *S. Enteritidis* (10^2 *S. Enteritidis* per ei), maar geven geen informatie over de fractie besmette dooiers. Bij 22°C neemt vier weken na inoculatie in twee weken tijd het aantal *S. Enteritidis* in besmette eieren sterk toe, tot meer dan 10^8 KVE per ml ei, na eerst constant te zijn gebleven op initieel besmettingsniveau. Bij hogere initiële besmettingsniveaus (10^4 of 10^6 per ei) neemt het aantal *Salmonella* twee weken na inoculatie toe. Bij lagere temperatuur blijft het aantal *Salmonella* gedurende de opslag (getest tot 7 weken) gelijk (10°C) of neemt het aantal zelfs af (4°C).

Afbraak van de vitelline membraan

Er is weinig literatuur beschikbaar over het verlies van impermeabiliteit van de vitelline membraan. Het zijn vooral de door Humphrey en Whitehead in 1993 gepubliceerde data die worden gebruikt. Whiting *et al* (2000) geven op basis van deze data een wiskundige beschrijving voor de tijd die nodig is om de YM af te breken (Yolk Membrane breakdown Time, YMT, in dagen): $\log(\text{YMT}) = 2,0872 - (0,042579 \times \text{temperatuur})$. Bij 18°C zou de afbraak van de YM gemiddeld zo'n 20 dagen duren (zie Figuur 2). Thomas *et al* (2006) hebben betrouwbaarheidsintervallen toegevoegd aan de YMT. Bij lagere temperaturen neemt de onzekerheid over de YMT sterk toe (Figuur 2).



Figuur 2. Modelmatige weergave van de Yolk Membrane breakdown Time (YMT) in relatie tot opslagtemperatuur. Weergegeven zijn de gefitte lijn met 95% betrouwbaarheidsinterval. Figuur uit: Thomas *et al* (2006).

Is de YM eenmaal permeabel, dan zal in het albumine aanwezige *S. Enteritidis* uitgroeien. De snelheid waarmee dit gebeurt, is afhankelijk van de temperatuur. Bij een lage initiële natuurlijke besmetting (N_0) van 10 KVE per ei (Humphrey *et al*, 1991) zal bij 18°C een ei binnen drie dagen nadat de YM permeabel is geworden meer dan 10^{10} KVE (N_t) bevatten. Dit is gebaseerd op: $N_t = N_0 \times 2^{(\text{opslagtijd/generatietijd})}$ en een generatietijd van 2,09 uur (ICMSF, 1996).

Microbiologische risico's voor consumptie van eieren

In Nederland geldt dat uitsluitend eieren die afkomstig zijn van leggen-boerderijen die vrij zijn van *S. Enteritidis* en *S. Typhimurium* verhandeld mogen worden als consumptie-eieren. Daartoe moeten leggen-boerderijen regelmatig monsters laten analyseren. Bij een infectie van een stal tussen twee bemonsteringen kunnen dan eventueel met *Salmonella* besmette eieren toch verhandeld worden. Uit de literatuur komt naar voren dat in eieren vooral besmetting met *S. Enteritidis* een gevaar vormt. De kans op infectie door consumptie van een met *S. Enteritidis* besmet ei hangt af van de mate van blootstelling (prevalentie van eieren besmet met *S. Enteritidis*; concentratie van *S. Enteritidis* in een besmet ei, mate van consumptie van eieren en wijze van bereiding van eieren) en van de dosis-respons relatie (mate van virulentie).

Microbiologisch risico bij de huidige THT-termijn van 28 dagen

Eieren kunnen vroeg (bijvoorbeeld in de stal) of later tijdens opslag besmet raken met Salmonella. Wanneer gedurende 28 dagen de opslag plaatsvindt bij omgevingstemperatuur (ongeveer 20°C), dan is deze periode lang genoeg voor het permeabel maken van de YM voor *S. Enteritidis* of dooiermateriaal, om uitgroei van *S. Enteritidis* in een ei mogelijk te maken. Of eieren die vroeg, bijvoorbeeld tijdens de leg, met *S. Enteritidis* besmet zijn binnen de huidige THT-termijn van 28 dagen ook daadwerkelijk een risico op infectie vormen is op basis van literatuurgegevens niet duidelijk. Het is namelijk mogelijk dat in vroeg besmette eieren de anti-microbiële activiteit in albumine voldoende is om lage aantallen aanwezige *S. Enteritidis* volledig te reduceren voordat dooiermateriaal beschikbaar komt. Binnen de huidige THT-termijn van 4 weken bestaat vanwege het verlies aan impermeabiliteit van de YM na ca. 3 weken in ieder geval het risico op uitgroei van een relatief late besmetting (Humphrey and Whitehead, 1993). Dit komt o.a. omdat bij een late besmetting dooiermateriaal beschikbaar is in het albumine waarmee de nog resterende antimicrobiële activiteit van albumine (deels) ongedaan wordt gemaakt. Het grootste risico op een Salmonella infectie binnen het huidige THT-termijn is dus verbonden aan eieren die bij omgevingstemperatuur gedurende 21 dagen of meer (na de leg) worden bewaard voordat ze geconsumeerd worden. Bekend is dat 30% van de Nederlandse consumenten eieren bij kamertemperatuur bewaart en dat 3% van alle consumenten dit langer doet dan 14 dagen (Chardon en Swart, 2016). Onduidelijk is welke fractie van de eieren binnen 21 dagen na de leg worden geconsumeerd en welke percentage erna (zie ook Thomas *et al*, 2006).

Microbiologisch risico bij verlengde THT-termijn tot 180 dagen

Een verlenging van de THT-termijn van 28 naar 180 dagen leidt niet tot een verandering van de mate van consumptie van eieren. Onduidelijk is of verlenging van de THT-termijn gevolgen heeft voor het percentage eieren dat binnen 21 dagen wordt geconsumeerd en of de wijze van bereiden verandert. Wel kan de prevalentie van met *S. Enteritidis* besmette eieren toenemen vanwege de langere periode waarin een besmetting kan optreden. In deze laat besmette eieren kan vanwege het verlies van impermeabiliteit van de YM (bij opslag onder omgevingstemperatuur) in eiwit aanwezige *S. Enteritidis* tot hoge aantallen uitgroeien. Door een verlies van impermeabiliteit van de YM wordt de kans op uitgroei van *S. Enteritidis* in vroeg besmette eieren ook groter. Dit zal afhankelijk zijn van de verhouding antimicrobiële activiteit/aantal Salmonella in albumine, maar er zijn gegevens voorhanden waaruit kan worden opgemaakt dat vroeg besmette eieren die opgeslagen waren bij 22°C pas na vijf weken een verhoogd risico (uitgroei van *S. Enteritidis*) vormden, terwijl het aantal *S. Enteritidis* gedurende deze eerste vijf weken niet afnam (Chen *et al*, 2005). Omdat Salmonella bij 20°C langzamer groeit dan bij 22°C en de vitelline membraan langer intact blijft, is het aannemelijk dat vroeg besmette eieren die gedurende zes weken bij 20°C i.p.v. 22°C worden opgeslagen en waarin na zes weken nog geen uitgroei heeft plaatsgevonden van aanwezige *S. Enteritidis* (20-47KVE/ei; Okamura *et al*, 2008) na die periode alsnog een risico kunnen vormen. Er zijn geen studies gevonden waarin met *S. Enteritidis* besmette eieren 180 dagen of langer zijn bewaard.

De infectieuze dosis (ID50) voor ziek worden van *S. Enteritidis* bedraagt ca 40 KVE (Teunis *et al*, 2010). Mocht uitgroei van *S. Enteritidis* in een met 20 KVE besmet ei (Humphrey *et al*, 1991) na verlies van impermeabiliteit van de dooiermembraan plaats vinden, dan zal consumptie van een besmet ei bij niet volledig kiemreducerende verwerking leiden tot een verhoogd risico op infectie, zowel in een situatie waarin een besmet ei wordt gegeten door één persoon als in de situatie waarin een besmet ei wordt verwerkt in een product dat door meerdere personen wordt gegeten.

De dosis respons relatie (mate van virulentie) van Salmonella wordt mede bepaald door de omstandigheden waarin Salmonella is gekweekt. Van ijzer (niet beschikbaar in albu-

mine, wel in de dooier) en de pH (hoog in albumine, neutraal in de dooier) is bekend dat zij van invloed zijn op de mate van zuurresistentie en daarmee op de kans om de zure maagbarrière van de mens te overleven (voor reviews, zie Audia *et al*, 2001; Alvarez-Ordóñez *et al*, 2015) en dus om ziekte te veroorzaken. Onduidelijk is of Salmonella uit albumine een andere mate van virulentie, een andere dosis-respons relatie, vertoont dan Salmonella uit dooier. Oftewel of de virulentie na 21 dagen, na verlies van de impermeabiliteit van de YM, verandert. Uit de literatuur kan niet worden afgeleid of dit in de praktijk ook het geval is.

Risicobeperkende maatregelen om de groei van *S. Enteritidis* te voorkomen

In haar 'Scientific opinion on the public health risks of table eggs due to deterioration and development of pathogens' stelt de EFSA (2014) in haar slotconclusies dat: 'Storage at chilled temperatures helps maintain overall physicochemical and microbiological quality of eggs.' Bij welke temperatuur dat is, wordt niet aangegeven, maar een lage temperatuur beperkt het risico op uitgroei van uitwendig schone, maar inwendig besmette eieren. Een lage opslag temperatuur heeft als risico dat uitwendig aanwezige Salmonella relatief lang overleeft (maar niet langer dan 4 weken; Park *et al*, 2015; McAuley *et al*, 2015) en dat de initieel antimicrobiële activiteit van het albumine laag is. Maar de mate van penetratie van de eischaal neemt af (Lublin en Sela, 2008) bij lage temperatuur.

Volgens Gantois *et al* (2009) en Chen *et al* (2005) kan *S. Enteritidis* in albumine niet groeien bij 10°C of lager. In dooiermateriaal is bij lage opslagtemperatuur de groei van Salmonella sterk geremd (Gast en Holt, 1999). En de snelheid waarmee de permeabiliteit van de YM toeneemt, neemt af bij lage temperatuur (Thomas *et al*, 2006; Okamura *et al*, 2008). Verlaging van de opslagtemperatuur is dus een belangrijke maatregel waarmee groei van *S. Enteritidis* in eieren kan worden beperkt. In de eerste vier weken zal bij opslag bij lage temperatuur in ieder geval het risico op uitgroei van Salmonella afnemen. Of bij verlenging van de THT-termijn naar 180 dagen ook nog sprake is van een verlaagd risico hangt af van de mogelijkheid tot en de mate van groei van *S. Enteritidis* bij de opslagtemperatuur. Onduidelijk is wat de gevolgen zijn voor de mate van virulentie van Salmonella bij opslag bij lage temperatuur.

Er zijn studies gedaan naar het effect van modified atmosphere packaging- of vacuüm-verpakken op de mate van uitwendige besmetting van verse eieren (Chen *et al*, 2005; Pasquali *et al*, 2012; Aygun en Sert, 2013). Uit deze studies blijkt dat vacuüm-verpakken in combinatie met opslag bij 5°C zorgt voor een afname van de mate van besmetting en dat vacuüm-verpakken en opslag bij 22°C groei op eierschalen remt (Aygun en Sert, 2013), maar dat 100% CO₂ of 100% O₂ geen remmend effect heeft op uitwendig aanwezige Salmonella ten opzichte van lucht (Pasquali *et al*, 2012).

Vragen van de NVWA:

1. Levert de verlenging van de THT-termijn van eieren tot maximaal een half jaar een substantieel risico op voor de voedselveiligheid in vergelijking met een THT-datum van 28 dagen? Is er een omslagpunt te benoemen (bijvoorbeeld tot 3 maanden nagenoeg geen extra risico daarna wel?).

Verlenging van de THT-termijn van consumptie-eieren van 28 dagen (de wettelijke THT voor tafeleieren zoals benoemd in de Vo (EG) Nr. 589/2008) naar maximaal 180 dagen zonder aanvullende voorwaarden geeft een verhoogd risico voor de voedselveiligheid. Het verhoogde risico geldt vooral voor uitgroei van *S. Enteritidis* in inwendig besmette eieren en, in mindere mate, voor het risico op een nabesmetting met elk willekeurig serotype Salmonella als gevolg van onvoldoende hygiëne. Het verhoogde risico op uitgroei wordt veroorzaakt door verlies van impermeabiliteit van de Yolk Membrane na ca. drie weken bij kamertemperatuur waardoor dooiermateriaal beschikbaar komt voor groei van Salmonella. Er is geen literatuur gevonden over de

mate van verhoging van de microbiologische risico's verbonden aan eieren bij verlenging van de houdbaarheidstermijn van 28 naar 180 dagen. Er is sprake van een omslagpunt waarbij een verhoogd risico op uitgroei van *Salmonella* in inwendig besmette eieren optreedt. Waar dit omslagpunt ligt, is afhankelijk van de temperatuur waarbij eieren worden bewaard. Het omslagpunt kan bij kamertemperatuur al bereikt worden binnen de huidige THT-termijn van 28 dagen. Na het omslagpunt is er sprake van een verhoogd risico op een hogere prevalentie van met *Salmonella* (na-)besmette eieren en van een verhoogd risico op (vroeg) besmette eieren waarin *S. Enteritidis* is uitgegroeid tot hoge aantallen. Mogelijk dragen veranderingen in de mate van virulentie van *Salmonella* na het omslagpunt ook bij aan een verhoogd voedselveiligheidsrisico.

2. Elementen die in het antwoord moeten worden meegenomen: Omstandigheden die in acht moeten worden genomen als verlenging wordt overwogen (bijvoorbeeld een constante koeltemperatuur van x graden).

Een verlengde THT-termijn van 180 dagen is mogelijk indien aan de volgende voorwaarden wordt voldaan:

- Eieren worden bewaard bij een constante temperatuur waarbij *Salmonella* niet kan groeien in dooiermateriaal. Onduidelijk is welke temperatuur dat moet zijn, maar deze zal in ieder geval lager zijn dan 10°C.
- Nabesmetting wordt voorkomen.

Referenties

Alvarez-Ordóñez, A, V Broussolle, P Colin, C Nguyen, M Prieto. 2015. The adaptive response of bacterial food-borne pathogens in the environment, host and food: Implications for food safety. *International Journal of Food Microbiology* 213: 99–109.

Audia, JP, CC Webb, JW Foster. 2001. Breaking through the acid barrier: An orchestrated response to proton stress by enteric bacteria. *International Journal of Medical Microbiology* 291: 97-106.

Aygun, A, D Sert. 2013. Effects of vacuum packing on eggshell microbial activity and egg quality in table eggs under different storage temperatures. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 93: 1626-1632. DOI: 10.1002/jsfa.5936.

Bolder, N, S van den End, M Bouwknecht, L Mughini-Gras, AN Swart, M Opsteegh, B Rockx, W van Pelt, HJM Aarts en AW van de Giessen. 2015. Microbiologische risicobeoordeling eierketens. RIVM briefrapport. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM), Bilthoven.

Chardon, J A Swart. 2016. Food consumption and handling survey for quantitative microbiological consumer phase risk assessments. *Journal of Food Protection*, 79: 1221-1233. DOI: 10.4315/0362-028X.JFP-15-448

Chen, J, HS Thesmar, WL Kerr. 2005. Outgrowth of *Salmonellae* and the physical property of albumen and vitelline membrane as influenced by egg storage conditions. *Journal of Food Protection* 68: 2553-2558.

Cogan, TA, G Domingue, HM Lappin-Scott, CE Benson, MJ Woodward, TJ Humphrey. 2001. Growth of *Salmonella enteritidis* in artificially contaminated eggs: effects of inoculum size and suspending media. *International Journal of Food Microbiology* 70: 131-141.

DeReu, K, K Grijspeerdt, W Messens, M Heyndrickx, M Uyttendaele, J Debevere, L Herman. 2006. Eggshell factors influencing eggshell penetration and whole egg contamination by different bacteria, including *Salmonella enteritidis*. International Journal of Food Microbiology 112: 253-260.

EFSA. 2014. Scientific opinion on the public health risks of table eggs due to deterioration and development of pathogens. EFSA Journal 12: 3782 [147 p]. Beschikbaar online: www.efsa.europa.eu.

EG Nr 589/2008 van de commissie van 23 juni 2008 tot vaststelling van bepalingen ter uitvoering van Verordening (EG) nr.1234/2007 van de Raad, wat betreft de handelsnormen voor eieren.

Gantois, I, R Ducatelle, F Pasmans, F Haesebrouck, R Gast, TJ Humphrey, F van Immerseel. 2009. Mechanisms of egg contamination by *Salmonella* Enteritidis. FEMS Microbiology Reviews 33: 718-738.

Gast, RK, PS Holt. 1999. Influence of the level and location of contamination on the multiplication of *Salmonella enteritidis* at different storage temperatures in experimentally inoculated eggs. Poultry Science 79: 559-563.

Gast, RK, R Guraya, J Guard and PS Holt. 2010. Multiplication of *Salmonella* Enteritidis in egg yolks after inoculation outside, on, and inside vitelline membranes and storage at different temperatures. Journal of Food Protection 73: 1902-1906.

Guard-Petter, J. 2001. The chicken, the egg and *Salmonella enteritidis*. Environmental Microbiology 3: 421-430.

Gumudavelli, V, J Subbiah, H Thippareddi, PR Velugoti and G Froning. 2007. Dynamic predictive modelling for growth of *Salmonella* Enteritidis in egg yolk. Journal of Food Science 72: M254-M262. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2007.00444.x.

Hope, BK, AR Baker, ED Edel, AT Hogue, WD Schlosser, R Whiting, RM McDowell, RA Morales. 2002. An overview of *Salmonella* Enteritidis risk assessment for shell eggs and egg products. Risk Analysis 22: 203-218.

Humphrey, TJ, A Whitehead. 1993. Egg age and the growth of *Salmonella enteritidis* PT4 in egg content. Epidemiology and Infection 111: 209-219.

Humphrey TJ, A Whitehead, AH Gawler, A Henley, B Rowe. 1991. Numbers of *Salmonella enteritidis* in the contents of naturally contaminated hens' eggs. Epidemiology and Infection, 106: 489-496.

ICMSF, 1996. Microorganisms in Foods 5: Characteristics of microbial pathogens. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.

Kim, CJ, DA Emery, H Rinke, KV Nagaraja and DA Halvorson. 1989. Effect of time and temperature on growth of *Salmonella enteritidis* in experimentally inoculated eggs. Avian Diseases 33: 735-742.

Lublin, A and S Sela. 2008. The impact of temperature during the storage of table eggs on the viability of *Salmonella enterica* serovars Enteritidis and Virchow in the eggs. Poultry Sciences 87: 2208-2214.

Lublin, A, I Maler, S Mechani, R Pinto, S Sela-Saldinger. 2015. Survival of *Salmonella enterica* serovar Infantis on and within stored table eggs. *Journal of Food Protection* 78: 287-292. DOI: 10.4315/0362-028X.JFP-14-066.

McAuley, CM, LL Duffy, N Subasinghe, G Hogg, J Coventry, N Fegan. 2015. *Salmonella* Typhimurium and *Salmonella* Sofia: growth in and persistence on eggs under production and retail conditions. *Biomed Research International* 2015: article ID 914987. DOI: 10.1155/2015/914987.

Musgrove, M. 2011. Microbiology and safety of table eggs. *In* (Van Immerseel, Nys and Bain, eds): *Improving the safety and quality of eggs and egg products; Volume 2 Egg safety and nutritional quality*. Woodhead Publishing, Cambridge, UK.

Okamura, M, S Kikuchi, A Suzuki, H Tachizaki, K Takehara, M Nakamura. 2008. Effect of fixed or changing temperatures during prolonged storage on the growth of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis inoculated artificially into shell eggs. *Epidemiology and Infection* 136: 1210-1216.

Park, S, S Choi, H Kim, Y Kim, B-s Kim, LR Beuchat, J-H Ryu. 2015. Fate of mesophilic aerobic bacteria and *Salmonella enterica* on the surface of eggs as affected by chicken feces, storage temperature, and relative humidity. *Food Microbiology* 48: 200-205.

Pasquali, F, G Manfreda, P Olivi, P Rocculi, F Sirri, A. Meluzzi. 2012. Modified-atmosphere packaging of hen table eggs: effects on pathogen and spoilage bacteria. *Poultry Science* 91: 3253-3259. DOI: 10.3382/ps.2012-02655.

Perry, JJ, AE Yousef. 2012. *Salmonella* Enteritidis in shell eggs: evolving concerns and innovative control measures. *Advances in Applied Microbiology* 81: 243-274.

Rehault-Godbert, S, F Baron, S Mignon-Grasteau, V Labas, M Gautier, MT Hincke, Y Nys. 2010. Effect of temperature and time of storage on protein stability and anti-*Salmonella* activity of egg white. *Journal of Food Protection* 73: 1604-1612.

Schoeni, JL, KA Glass, JL McDermott, ACL Wong. 1995. Growth and penetration of *Salmonella enteritidis*, *Salmonella heidelberg* and *Salmonella typhimurium* in eggs. *International Journal of Food Microbiology* 24: 385-396.

Teunis, PFM, F Kasuga, A Fazil, ID Ogden, O Rotariu, NJC Strachan. 2010. Dose-response modeling of *Salmonella* using outbreak data. *International Journal of Food Microbiology* 144: 243-249.

Thomas C, B Daughtry, D Padula, D Jordan, G Arzey, K Davey, G Holds, J Slade, A Poin-ton. (Australian Egg Corporation Limited, Australia). 2006. *An Egg: Salmonella Quantitative Risk Assessment Model for the Australian Egg Industry*. Australian Egg Corporation Limited, Australia.

Whiley, A, H Fallowfield, K Ross, V McEvoy, H Whiley. 2016. Higher storage temperature causes greater *Salmonella enterica* serovar Typhimurium internal penetration of artificially contaminated, commercially available, washed free range eggs. *Journal of Food Protection* 79: 1247-1251. DOI: 10.4315/0363-028X.JFP-16-078.

Whiley, H, K Ross. 2015. Salmonella and eggs: from production to plate. International Journal of Environmental Research and Public Health 12: 2543-2556. DOI: 10.3390/ijerph120302543.

Whiting, RC, A Hogue, WD Schlosser, ED Edel, RA Morales, A Baker, RM McDowell. 2000. A quantitative process model for *Salmonella* Enteritidis in shell eggs. Food Microbiology and Safety 65: 864-869.

Zhang, W, J-X Zheng, G-Y Xu. 2011. Towards better control of Salmonella contamination by taking advantage of the egg's self-defense system: a review. Journal of Food Sciences 76: R76-R81. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2011.02053.x.

Zomer, T, M De Rosa, O Stenvers, S Valkenburgh, H-J Roest, I Friesema, M Maas, J van der Giessen, W van Pelt, K Maassen. 2014. Staat van Zoönosen 2013. RIVM rapport 2014-0076. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM), Bilthoven. Beschikbaar online: www.rivm.nl.