

## BESCHRIJVENDE VETERINAIRE EPIDEMIOLOGIE

F. Boelaert<sup>1</sup>, D. Verloo<sup>2</sup>, J. Dewulf<sup>3</sup>, D. Maes<sup>3</sup>, K. Mintiens<sup>2</sup>, H. Laevens<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Europese Autoriteit voor Voedselveiligheid (European Food Safety Authority),  
Palazzo Ducale, Parco Ducale 3, I-43100 Parma, Italië

<sup>2</sup> Coördinatiecentrum voor Diergeneeskundige Diagnostiek,  
Centrum voor Onderzoek in Diergeneeskunde en Agrochemie,  
Groeselenberg 99, B-1180 Brussel

<sup>3</sup> Vakgroep Verloskunde, Voortplanting en Bedrijfsdiergeneeskunde,  
Afdeling voor Veterinaire Epidemiologie, Faculteit Diergeneeskunde,  
Universiteit Gent, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke  
frank.boelaert@efsa.eu.int

### SAMENVATTING

De beschrijvende epidemiologie brengt de aantallen en de verdeling van aandoeningen onder natuurlijk verloop in kaart. Dit cijfermateriaal betreft de ziektefrequentiematen. Eerst wordt de prevalentie gedefinieerd. De prevalentie van een ziekte is een momentane ziektefrequentiebeschrijving. Het is de proportie van een populatie die zich op een bepaald moment in de tijd in de 'ziekstatus' bevindt. De incidentie daarentegen, behandeld in een tweede deel, beschrijft de dynamische ziektefrequentie en dus snelheid van overgang van de 'niet-ziekstatus' naar de 'ziekstatus'. Incidentie is de meest nauwkeurige ziektefrequentie maat. Een inzicht in de dynamiek van infectieziekten is belangrijk wanneer beslissingen met betrekking tot preventie, controle en/of uitroeiing moeten worden genomen. Daarom wordt in dit tweede stuk tevens ingegaan op de algemene principes van de transmissiedynamiek van infectieziekten.

Meestal is het aangewezen om de ziekte in functie van structurele subgroepen (geslacht, leeftijd, provincie, ...) van de populatie te onderzoeken. Deze stratumspecifieke ziektefrequentiematen zijn belangrijk om een niet-vertekend beeld van de aandoening te krijgen; ze worden in een derde deel behandeld. Daarna worden de begrippen screening, survey, monitoring en surveillance gedefinieerd. Definities zijn nodig omdat deze termen in de praktijk vaak niet consequent gebruikt worden. De resultaten van ziekte monitoring en/of surveillance kunnen slechts trends aanwijzen. Het zijn geen ziektefrequentiematen voor aandoeningen in de populatie. Dit zou wel zo zijn indien monitoring en/of surveillance gebaseerd zou (den) zijn op een toevalsgewijze steekproef. Dan spreekt men van een Monitoring en Surveillance Systeem (MOSS). De hoeksteen van een MOSS is steekproefonderzoek, een sample survey. De steekproefmethodologie voor dierenziekten wordt als laatste besproken.

### INLEIDING

Beschrijvende epidemiologie bestudeert de frequentie van het voorkomen van aandoeningen in populaties. Ziektefrequentiematen zijn de bouwstenen voor elk epidemiologisch onderzoek. Om een frequentie te kunnen berekenen, is het belangrijk om het aantal ziektegevallen te onderkennen. Daarnaast is het minstens even belangrijk om de populatie waaruit die ziektegevallen zijn ontstaan, in beeld te brengen (Stewart, 1970). Met andere woorden, ziektefrequentiematen zijn relatieve waarden onafhankelijk van de grootte van de populatie. Slechts zelden,

bijvoorbeeld om administratieve redenen, zijn absolute cijfers (van ziektegevallen) relevant.

In dit artikel worden de ziektefrequentiematen besproken die de bouwstenen zijn van de beschrijvende veterinaire epidemiologie, namelijk de momentane en deze die de dynamiek van infecties beschrijven. Ook worden de verschillende soorten studies aangehaald om dergelijke gegevens te verzamelen in deze epidemiologische studies. De hoeksteen waarop deze gegevensverzameling steunt, is de aselechte steekproefname. Het artikel bevat van al deze onderwerpen concrete voorbeelden gebaseerd op nationale, beschrijvende, epidemiologische studies.

## MOMENTANE BESCHRIJVING VAN DE ZIEKTE-FREQUENTIE

Een momentane ziektefrequentie maat beschrijft het voorkomen van ziektegevallen op een welbepaald moment. Elk individu (dier) van een populatie bevindt zich dus in één van de twee mogelijke 'staten': ziek of niet ziek.

### Prevalentie

De prevalentie is de kans dat een willekeurig uit de populatie gekozen dier de ziekte heeft en komt dus overeen met de proportie van zieke dieren in de populatie. De prevalentie, een parameter van de populatie, wordt weergegeven door  $\pi$ . De prevalentie in de populatie kan worden geschat door het nemen van een steekproef. Het aantal zieke dieren in de steekproef wordt dan gedeeld door het totaal aantal dieren in de steekproef, wat leidt tot de steekproefprevalentie  $\hat{\pi}$ .

$$\hat{\pi} = \frac{\text{Aantal zieke dieren in de steekproef}}{\text{Totaal aantal dieren in de steekproef}}$$

#### Voorbeeld

In 1998 werd de prevalentie van Infectieuze Boviene Rhinotracheïtis (IBR) - seropositieve runderen geschat in de Belgische rundveepopulatie. Het aantal seropositieve runderen was 4 060 in een steekproef van 11 284 runderen die nooit gevaccineerd werden, wat tot een geschatte 'seroprevalentie' van 35,9% leidde (Boelaert *et al.*, 2000).

De bestudeerde populatie kan bestaan uit de dieren van een bedrijf of de dieren van meerdere bedrijven of de dieren van een regio, provincie of land. De basisdefinitie 'dierprevalentie' terzijde gelaten, kunnen we prevalentie verder definiëren in functie van de bedrijfsprevalentie en de binnenbedrijfsprevalentie. In analyses aangaande bedrijfsprevalentie wordt een populatie van bedrijven beschouwd. De bedrijfsprevalentie is de proportie bedrijven met minstens 'x' zieke dieren, x zijnde een afkapwaarde om een bedrijf als positief te bestempelen. De binnenbedrijfsprevalentie is het gewogen (volgens bedrijfsgrootte) gemiddelde (of mediaan) van de proportie positieve dieren van de positieve bedrijven.

### Ware prevalentie versus schijnbare prevalentie van een steekproef

Het bepalen van de steekproefprevalentie van een ziekte is meestal gebaseerd op testresultaten. Test-

resultaten komen echter nooit perfect overeen met de werkelijkheid (werkelijke status met betrekking tot de aandoening), aangezien er een aantal valspositieve en valsnegatieve uitslagen optreden. Daarom wordt de steekproefprevalentie die bepaald wordt op basis van testresultaten, als 'schijnbare' steekproefprevalentie gedefinieerd. Wanneer de karakteristieken van de gebruikte test gekend zijn (diagnostische gevoeligheid en specificiteit van de test), kan men op basis van de schijnbare steekproefprevalentie de ware steekproefprevalentie schatten. De bespreking van de problematiek van het diagnostisch proces, is het onderwerp van een volgend artikel in deze reeks (Verloo *et al.*, 2005).

## BESCHRIJVING VAN DE DYNAMIEK VAN INFECTIES

### Incidentie als de algemene frequentie maat van de infectiedynamiek

Incidentie is de kans dat een gezond willekeurig uit de populatie gekozen dier in een bepaalde tijdsperiode de bestudeerde ziekte krijgt.

De *cumulatieve incidentie (CI)* of het *incidentierisico* of kortweg het '*risico*' van een ziekte is het aantal nieuwe ziektegevallen dat optreedt gedurende een bepaalde tijdsperiode. De teller en de noemer betreffen enkel die dieren die zich bij het begin van de observatieperiode in de 'niet-ziekstatus' bevinden, en die dus risico lopen ('at risk' zijn) om ziek te worden. De cumulatieve incidentie is net zoals de prevalentie een proportie, variërend tussen 0 en 1 (0 en 100%) en dimensieloos. Het is de proportie niet-zieke dieren die naar de 'ziekstatus' overgaat gedurende een observatieperiode. Het is dus een maat voor het risico voor gezonde, ziektegevoelige dieren om een bepaald gezondheidsprobleem te ontwikkelen, gedurende een bepaalde tijdsspanne.

De cumulatieve incidentie heeft slechts waarde in functie van een gegeven tijds kader, dat dus steeds moet vermeld worden. De cumulatieve incidentie wordt bepaald door de lengte van de observatieperiode, want hoe langer de observatieperiode, hoe hoger de cumulatieve incidentie. Ze kan geschat worden op basis van een steekproef, wat leidt tot een schatter van de cumulatieve incidentie aangegeven door

$$\hat{CI} = \frac{\text{Aantal dieren in de steekproef dat ziek werd tijdens de observatieperiode}}{\text{Aantal niet-zieke dieren in de steekproef bij de start van de observatieperiode}}$$

*Voorbeeld*

Bij onderzoek op ruim 40 rundveebedrijven bleek de cumulatieve incidentie van klinische kreupelheid in deze steekproef per lactatie ruim 25% te zijn (Barkema *et al.*, 1994). Met andere woorden, elke afkalvende koe had gemiddeld een risico van 25% om kreupel te worden tijdens de daaropvolgende lactatie.

De *incidentiedichtheid (ID)* is een tweede frequentie maat om incidentie te beschrijven. De incidentiedichtheid is de kans dat een gezond willekeurig uit de populatie gekozen dier ziek wordt in de daaropvolgende tijdseenheid (bijvoorbeeld dag). Om de incidentiedichtheid te schatten op basis van een steekproef moet het aantal ziektegevallen in een bepaalde tijdsperiode gekend zijn. Ook moet men het aantal tijdseenheden dat de geobserveerde dieren het risico liepen om de ziekte op te doen, kennen. Dit wordt weergegeven door het aantal dier-dagen of dier-jaren (tijdseenheden 'at risk'). De bijdrage van een dier tot het totale aantal dier-dagen komt overeen met het aantal dagen dat het dier geobserveerd werd zonder ziekte. Eens het dier ziek is, loopt het met name geen risico meer om de ziekte op te doen. De schatter van de incidentiedichtheid gebaseerd op een steekproef is dan

$$\hat{ID} = \frac{\text{Aantal dieren in de steekproef dat ziek werd tijdens de observatieperiode}}{\text{Aantal tijdseenheden 'at risk' in de steekproef in de observatieperiode}}$$

Als de exacte tijdsperiode per dier niet kan gemeten worden, neemt men als benadering voor de noemer, de som van het aantal dieren 'at risk' bij het begin en op het einde van de observatieperiode, gedeeld door 2 en vermenigvuldigd met het aantal tijdsperiodes (bijvoorbeeld maanden, jaren) dat de studieperiode loopt.

*Voorbeeld*

Maes *et al.* (2001) bestudeerden de incidentiedichtheid van sterfte bij vleesvarkens (mortaliteitsdichtheid) in functie van de tijd na opzet. Daarvoor werd een vleesvarkenspopulatie in een multi-site productiesysteem in de Verenigde Staten gedurende vier jaar gevolgd. In totaal werden data van 1 345 127 vleesvarkens geanalyseerd. De globale mortaliteitsdichtheid werd geschat op 3,23 sterftegevallen per 1000 varkens-weken 'at risk'.

Incidentie is een algemene maat voor de infectiedynamiek. Als het de bedoeling is de infectiedynamiek beter te begrijpen en te onderzoeken welke

factoren inspelen op welk aspect van de infectiedynamiek, moet het voortschrijden van de infectie in de populatie verder gemodelleerd worden. Hiervoor gebruikt men vaak het SIR- (Sensitive-Infectious-Removed) model.

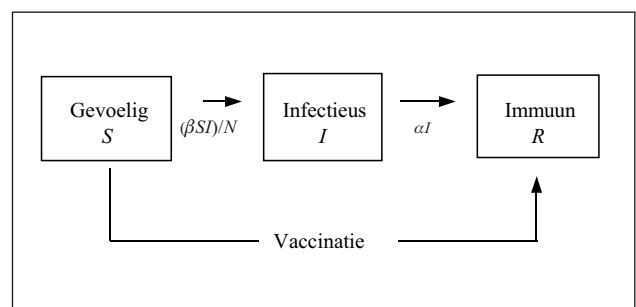
**Het SIR-model**

*Om de dynamiek van infectieziekten te bestuderen worden vaak wiskundige modellen gebruikt. Het is zo dat een dierpopulatie kan onderverdeeld worden in een drietal compartimenten (staten) (Figuur 1). Deze geven de positie van het dier aan met betrekking tot de gevoeligheid voor het infectieus agens en de infectiviteit.*

*De drie compartimenten zijn:*

1. *Gevoelig (Sensitive). Het dier is nog niet in contact geweest met het infectieus agens en is gevoelig voor de infectie. Het aantal gevoelige dieren is 'S'.*
2. *Infectieus (Infectious). Het dier is geïnfecteerd met het infectieus agens en scheidt dit ook uit zodat andere dieren besmet kunnen worden. Het dier kan seronegatief zijn of in sommige gevallen seropositief. Het aantal infectieuze dieren is 'I'.*
3. *Immuun (Removed). Het dier kwam in contact met het infectieus agens en heeft immuniteit opgebouwd of is gestorven. In beide gevallen is het dier niet meer gevoelig voor infectie en niet meer infectieus. Het aantal immune dieren is 'R'.*

*Uiteraard is dit SIR-compartimentmodel een vereenvoudiging van de werkelijkheid. Maar het kan toch waardevolle informatie leveren. De transmissierate (overgangssnelheid) van compartiment 'gevoelig' naar compartiment 'infectieus' wordt aangegeven door de transmissiecoëfficiënt  $\beta$ . Deze transmissiecoëfficiënt wordt beïnvloed door een aantal dierfactoren, kiemfactoren (virulentie) en huisvesting- en managementfactoren. Hoe minder infectieus het*



**Figuur 1.** SIR-compartimentmodel, met drie staten betreffende de gevoeligheid voor infectie en infectiviteit (S: aantal gevoelige dieren, I: aantal infectieuze dieren, R: aantal immune dieren, en  $\beta$ : transmissiecoëfficiënten).

agens is en/of hoe lager de contactintensiteit tussen dieren is, hoe lager  $\beta$ . De transmissierate van het compartiment 'infectieus' naar het compartiment 'immuun' wordt aangegeven door de transmissiecoëfficiënt  $\alpha$ . Deze waarde is betrekkelijk constant en ongeveer gelijk aan  $1/\text{infectieuze periode}$ . Bij IBR bijvoorbeeld is dat ongeveer 1 per 2 weken.

De mate waarin de dieren tussen de verschillende compartimenten overgaan, kan nu bestudeerd worden door modellering. Hiervoor is een aantal gegevens vereist, zoals waarden voor de compartimentsgrootte en de transmissiecoëfficiënten  $\beta$  en  $\alpha$ . Het aantal dieren dat overgaat van gevoelig naar infectieus, is gelijk aan  $(\beta * S * I) / N$ . Het aantal nieuwe infecties is dus afhankelijk van de transmissiecoëfficiënt  $\beta$ , het aantal gevoelige dieren  $S$ , en het aantal infectieuze dieren  $I$ . Het is de fractie gevoelige dieren  $S/N$  ( $N$  is het totaal aantal dieren in de populatie) die de motor is van de infectie: het is 'brandhout' voor het 'vuur'. Het aantal dieren dat overgaat van infectieus naar immuun is gelijk aan  $\alpha * I$ .

Een uitbreiding naar complexere compartimentmodellen gebeurt door de specificatie van andere compartimenten, bijvoorbeeld een compartiment voor aanvoer en afvoer of een vaccinatiecompartiment.

### Infectiekaracteristieken

Met behulp van compartimentmodellen kan de dynamiek van een infectie beschreven worden. Een belangrijke parameter van de infectiedynamiek is de basisreproductie ratio,  $R_0$ . Deze ratio is een maat voor het transmissiepotentieel van een infectie in een gevoelige populatie. Ze hangt af van de karakteristieken van de infectie en van de populatie waarin het infectieus agens terechtkomt.

De basisreproductie ratio wordt gedefinieerd als het gemiddeld aantal secundaire infecties dat voortkomt uit een typisch (primair) infectieus dier gedurende zijn ganse infectieuze periode in een volledig gevoelige populatie. De kritische waarde van deze parameter is gelijk aan 1. Wanneer deze ratio kleiner is dan 1, sterft de infectie uit. Wanneer deze ratio groter is dan 1, kan de infectie aanleiding geven tot een uitbraak, een epidemie. De  $R_0$ -waarde kan onder andere berekend worden uit de transmissiecoëfficiënten van het SIR-model ( $R_0 = \beta/\alpha$ ). De kans op een epidemie wordt geschat als  $1 - [1/R_0]$ .

### Voorbeeld

De  $R_0$  voor IBR werd geschat op 7 (Hage et al., 1996). De kans op een epidemie na introductie van het virus in een gevoelige populatie is dus  $1 - [1/7] = 6/7 = 0,86$  of 86%.

Enkele voorbeelden van schattingen van  $R_0$ -waarden voor een aantal infecties zijn weergegeven in Tabel 1.

Wanneer de populatie niet meer volledig gevoelig is, bijvoorbeeld na vaccinatie of wanneer dieren een natuurlijke immuniteit opbouwen na infectie, kan er nog steeds een reproductie ratio worden geschat. Deze wordt aangeduid als de  $R$ -waarde. De  $R$ -waarde – net zoals de  $R_0$ -waarde een getal – schat het gemiddeld aantal secundaire infecties dat voortkomt uit een typisch (primair) infectieus dier gedurende zijn ganse infectieuze periode in een niet meer volledig gevoelige populatie. Wanneer een infectieus agens stabiel aanwezig is in een populatie, zal de  $R$ -waarde ongeveer 1 bedragen. De  $R$ -waarde van een kiem wordt bepaald door de infectiviteit van de kiem, maar ook door omstandigheden in het management en de huisvesting van de dieren.

### Voorbeeld

De  $R$ -waarde voor IBR werd geschat op 2,4 en op 3,4 in runderpopulaties respectievelijk gevaccineerd met een geïnactiveerd gE-negatief- en een experimenteel gD-subeenheid vaccin (Bosch et al., 1998). Dit betekent dat, alhoewel de incidentie van IBR-infecties in het veld door beide vaccins (significant) verlaagd werd, de reproductie ratio  $R$  toch boven 1 bleef. Uitbraken van IBR kunnen dus nog plaatsvinden in gevaccineerde populaties. Naast vaccinatie zijn sanitaire maatregelen dus van vitaal belang om de  $R$ -waarde beneden de kritische drempelwaarde van 1 te krijgen.

### BESCHRIJVING VAN DIERENZIEKTEN IN EEN POPULATIE

Het is vaak weinig informatief om globale frequentiematen te rapporteren waarbij men de ganse populatie als noemer gebruikt. Meestal is het aangewezen om het voorkomen en de verspreiding van dierenziekten meer in detail te beschrijven, namelijk in functie van bepaalde strata. Strata zijn subgroepen gevormd in functie van bepaalde populatie-eigenschappen (geslacht, leeftijd, provincie, ...) en houden dus rekening met de structuur van de populatie.

Een klassiek beschrijvend epidemiologisch onderzoek brengt drie karakteristieken van het voorkomen



**Tabel 1. Schattingen van R<sub>0</sub>-waarden voor een aantal agentia.**

Infectie	Gastheer	Land	R <sub>0</sub> -waarde	Referentie
Klassieke varkenspest	Varkens	België	13	(Dewulf <i>et al.</i> , 2001)
Klassieke varkenspest	Varkens	België	13,7	(Laevens <i>et al.</i> , 1999)
African horse sickness	Zebra's	Zuid-Afrika	68	(Lord <i>et al.</i> , 1997)
Infectieuze boviene Rhinotracheïtis	Runderen	Nederland	7	(Hage <i>et al.</i> , 1996)
Mond- en klauwzeer	Runderen	Saoedi-Arabië	2 - 73	(Woolhouse <i>et al.</i> , 1996)
<i>Staphylococcus aureus</i>	Runderen	Nederland		(Lam <i>et al.</i> , 1996)
Mastitis				
met tepeldip			1,4	
zonder tepeldip			7,5	
Boviene virale diarree	Runderen	Nederland	3,3 – 3,9	(Moerman <i>et al.</i> , 1993)
Leishmania	Honden	Malta	11	(Dye <i>et al.</i> , 1992)
Mond- en klauwzeer	Buffalo's	Zuid-Afrika	5	(Thomson <i>et al.</i> , 1992)
Rundertuberculose	Possums	Nieuw-Zeeland	1,8 – 2,0	(Roberts, 1992)
Hondsdolheid	Vossen	België	2 - 5	(Brochier <i>et al.</i> , 1991)
Trypanosomiasis	Runderen	West-Afrika	64 – 388	(Rogers, 1988)
Rundertuberculose	Dassen	Verenigd Koninkrijk	2,5 – 10	(Anderson en Trehwella, 1985)

van dierenziekten in kaart: Wie? Wanneer? Waar? Men tracht namelijk het voorkomen van een ziekte te beschrijven in functie van de leeftijd, de tijd en de plaats.

### Wie?

Men beschrijft het voorkomen van ziekte per leeftijdscategorie van de populatie.

### Voorbeeld

Gedurende de winterstalscreening 1995-1996 voor brucellose waren er seropositieve runderen in de provincie Namen. Wanneer de seroprevalenties per leeftijdsklasse beschreven werden, bleek dat runderen tussen 1 en 2 jaar oud een hogere seroprevalentie hadden dan runderen van andere leeftijdsklassen (Tabel 2). Een verklarende hypothese was dat jonge runderen eventueel gevoeliger waren voor infecties met de kruisreagerende kiem *Yersinia enterocolitica* (Saegerman *et al.*, 1997).

### Wanneer?

Ook de verspreiding in functie van de tijd is belangrijk. Zijn er tijdgebonden verschillen? Het is belangrijk om het normale, natuurlijke tijdsverloop van een ziekte te kennen, om te kunnen nagaan wanneer er een ongewone toename of afname van de ziekte is. Twee begrippen zijn hier belangrijk. Endemiciteit (endemie) duidt op een continue aanwezig-

**Tabel 2. Seroprevalentie van brucellose bij runderen, per leeftijdscategorie, in Namen, 1995-1996.**

Leeftijd (jaren)	Aantal geteste runderen	Dierseroprevalentie (%)
1 - <2	325	3,38
2 - <3	274	0,02
3 - <4	235	0,00
4 - <5	134	0,01
5	263	0,00
<b>Totaal</b>	<b>1231</b>	<b>0,01</b>

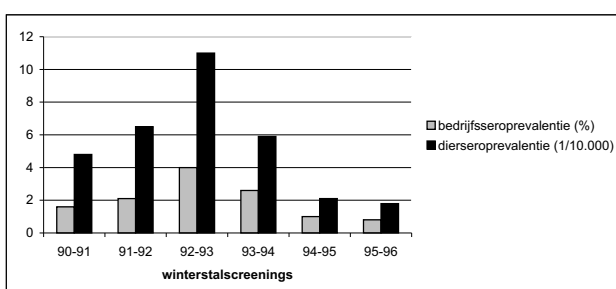
heid van de aandoening. Met andere woorden, de frequentie van voorkomen is voorspelbaar. Epidemie duidt op een sterke toename van een ziekte boven een bepaalde drempelwaarde in een gegeven populatie. Er is een plotse, duidelijke en onverwachte stijging van het aantal ziektegevallen na een periode van afwezigheid of zeer lage prevalentie. De epidemieën van klassieke varkenspest die de Belgische varkenssector troffen in 1990 en 1993-1994 zijn hiervan een schoolvoorbeeld. Epidemieën kunnen tevens optreden wanneer een nieuwe stam van een bepaald agens opduikt. Bovendien kunnen endemische ziekten die nu uitgeroeid zijn, een epidemische vorm aannemen bij herintroductie van het agens in een vrije regio (bijvoorbeeld runderbrucellose). Wanneer een epidemie zich uitspreidt over verschillende landen is er sprake van een pandemie. Dit kan bijvoorbeeld het geval zijn voor Newcastle disease bij pluimvee of voor Mond- en klauwzeer bij tweekhoevigen.

De variabiliteit in de verspreiding van een ziekte kan periodiek of niet-periodiek zijn. Periodieke variatie kan fysiologisch of seizoengebonden zijn. Daarom is het steeds belangrijk de invloed van een controleprogramma na te gaan gedurende tenminste 1 jaar. Zo kunnen onder andere seizoeninvloeden ontdekt worden. Bij epidemieën is de variabiliteit niet periodiek.

#### Voorbeeld

Maes *et al.* (2000) bestudeerden niet-infectieuze factoren die mogelijk geassocieerd waren met pneumonie bij slachtvarkens afkomstig van gesloten varkensbedrijven. Uit hun studie bleek dat de binnenbedrijfsprevalentie van slachtvarkens met pneumonie verhoogd was bij slachthuisinspectie in januari en februari. Dit zou kunnen verklaard worden door een veranderde, relatieve luchtvochtigheid en temperatuur, maar ook door een verlaagd ventilatieregime dat men in de maanden januari en februari toepast om de omgevingstemperatuur in de varkenshokken op peil te houden.

**Figuur 2. Seculaire trend in de runderbrucellose positieve serologische reacties, in Namen, 1990-1996.**



Tenslotte zijn er ook seculaire trends. Een seculaire trend is de evolutie van een gezondheidsfenomeen over een langere tijd (over jaren of diergeneraties). Ook deze trends moet men onderkennen om de impact van controleprogramma's te kunnen beoordelen.

#### Voorbeeld

Zoals reeds vermeld, waren er in het verleden serologisch positieve reacties voor runderbrucellose in de provincie Namen die vermoedelijk veroorzaakt werden door infectie met de kruisreagerende kiem *Yersinia enterocolitica*. Wanneer de evolutie van deze seroprevalentie in de tijd beschreven werd, werd een seculaire trend vastgesteld (Figuur 2). Gedurende de winterscreenings van 1990 tot 1993 namen deze problemen toe, met in 1992-1993 een dier- en bedrijfs-seroprevalentie van respectievelijk >0,1% en 4%. Hierna daalden beide seroprevalenties (Saegerman *et al.*, 1997).

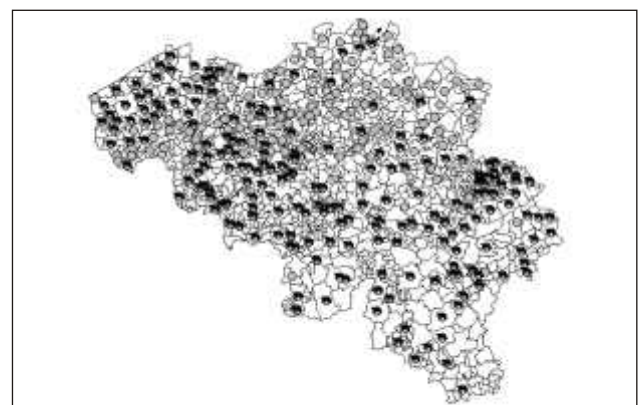
#### Waar?

Hierbij beschrijft men de ruimtelijke (spatiale) verdeling van het probleem. Plaats is een geografisch begrip, meestal gedefinieerd in termen van ligging (breedte- en lengtegraden), maar kan ook gedefinieerd worden in termen van urbanisatiegraad en ecologie. Deze spatiale beschrijving van dierenziekten is zeer belangrijk in epidemiologische bewakingsprogramma's en in exploratief onderzoek.

#### Voorbeeld

Runderhypodermose is een parasitaire infestatie. Vooraleer een eventueel bestrijdings- en/of uitroeiingsprogramma uit te werken voor deze infestatie is het belangrijk haar verspreiding te kennen. Uit een

**Figuur 3. Geografische verdeling van de *Hypoderma spp.* bedrijfs-seroprevalentie in België, 1998 (grijze cirkels: seronegatieve bedrijven, grijze cirkels met zwarte koe: seropositieve bedrijven).**



seroprevalentiestudie bleek dat de proportie seropositieve runderbedrijven 48,7% was (190/390). Wanneer de bedrijfsseroprevalentie in kaart wordt gebracht, worden er geografische patronen duidelijk (Figuur 3). Het zuiden van België heeft een hoge bedrijfsseroprevalentie, terwijl die in het noorden lager is en ongelijk verdeeld is. In het noorden is er een hoge bedrijfsseroprevalentie in West-Vlaanderen, langs de kust, terwijl regio's grenzend aan Nederland minder seropositieve bedrijven hebben (Haine *et al.*, 2004). Op basis van deze patronen kunnen hypothesen besproken worden aangaande de associatie tussen demografische, geografische en klimatologische factoren en de bedrijfsseroprevalentie.

#### TYPES VAN BESCHRIJVENDE EPIDEMIOLOGISCHE STUDIES: SCREENING, SURVEY EN MOSS

Er zijn verschillende soorten studies om gegevens te verzamelen in een beschrijvende epidemiologie; achtereenvolgens zullen hier screening, survey, monitoring en surveillance besproken worden. De definities van deze termen zijn belangrijk omdat ze in de praktijk vaak niet consequent gebruikt worden.

*Screening* is het testen van alle leden van een populatie om ziektegevallen op te sporen. Op die manier kunnen dierpopulaties in twee klassen worden onderverdeeld, namelijk ziektevrrije en potentieel geïnfecteerde dieren. De gebruikte 'screeningstest' is vaak goedkoop en eenvoudig uit te voeren, maar streeft meestal niet naar het stellen van een definitieve diagnose. De negatieve dieren worden als ziektevrrij aangeduid, terwijl de positieve dieren een bevestigingstest (confirmatietest) ondergaan om tot een definitieve diagnose te komen.

##### Voorbeeld

Sinds januari 2001 worden alle slachtrunderen ouder dan 30 maanden gescreend voor Boviene Spongiforme Encefalopathie (BSE). Het zijn private, geaccrediteerde laboratoria die een ELISA-screeningstest uitvoeren op hersenweefsel van de geslachte runderen. Slechts als deze test positief is, ondergaan de stalen bijkomende bevestigingstesten in het referentielaboratorium (CODA). Ook twijfelachtige screeningsresultaten, of niet-conforme stalen worden door het referentielaboratorium verder onderzocht.

Met een *sample survey* test men een steekproef van een populatie. De te onderzoeken leden worden lukraak (toevalsgewijs) geselecteerd. Wanneer alle leden van een populatie onderzocht worden, spreekt men van een *census survey* of *census*, wat analoog is aan een screening.

##### Voorbeeld

Boelaert *et al.* (1999) testten 553 bij toeval geselecteerde Vlaamse varkensbedrijven met zeugen op de aanwezigheid van antistoffen tegen het Aujeszky veldvirus. In deze *sample survey* had 44% van de bedrijven een groot aantal jonge zeugen met antistoffen.

*Monitoring* ('trend watching') is een voortdurend testprogramma dat streeft naar het vroegtijdig vaststellen van veranderingen in de prevalentie van een ziekte, dat op een verandering in de incidentie van die ziekte kan duiden. Monitoring impliceert dat er geen controlemaatregelen worden genomen wanneer een normaal percentage van positieve dieren wordt aangetroffen.

##### Voorbeeld

In België worden de pluimveefokbedrijven sinds 1993 gecontroleerd op de aanwezigheid van *Salmonella spp.* In elke toom wordt strooisel (mengmeststaal) bacteriologisch onderzocht. De resultaten van deze onderzoeken worden gecentraliseerd. In 1996 werd in 11% van de bemonsterde bedrijven *S. Enteritidis* geïsoleerd, in 6% van de bemonsterde bedrijven *S. Typhimurium*, en in 17% van de bemonsterde bedrijven *S. Hadar* (Imberechts, 1997).

*Surveillance* (toezicht) is een uitbreiding van het concept monitoring. Het is het continu observeren van een populatie om ziektegevallen in het kader van ziektebestrijdingsprogramma's vroegtijdig te detecteren, en om onmiddellijk actieve sanitaire controlemaatregelen te kunnen nemen. Meestal wordt een bepaald gedeelte van de populatie getest dat gemakkelijk toegankelijk is, bijvoorbeeld slachtdieren (via slachtmateriaal) of melkleverende rundveebedrijven (via tankmelk).

##### Voorbeeld

In 1997 werd vernoemd *Salmonella* monitoringsprogramma in pluimveefokbedrijven geïntensifieerd

tot een surveillance programma. Namelijk, vanaf 1997 worden de onderzoeksresultaten niet alleen naar het onderzochte fokbedrijf verzonden, maar tevens naar de bedrijfsdierenarts, naar de Veterinaire Inspectiediensten, alsook naar de volgende schakel in de pluimveeproductieketen (vermeerderingsbedrijf en/of broeierij). Met deze informatieverspreiding worden alle partners ingelicht die verantwoordelijk zijn voor het nemen van aangepaste maatregelen in geval van de aanwezigheid van *Salmonella*. Dit surveillance programma kwam er mede onder impuls van EU-richtlijnen 1992/117 en 1997/22. In deze richtlijnen wordt het *Salmonella* monitoringsprogramma besproken. Het gaat hier echter over een surveillance aangezien sanitaire maatregelen worden opgelegd in geval van de isolatie van *S. Enteritidis* of *S. Typhimurium*.

De gerapporteerde proportie *Salmonella* positieve pluimveefokbedrijven is sinds 1997 beduidend gedaald. In 2001 was nog slechts 2% van de bemonsterde bedrijven positief voor *S. Enteritidis*, en 2% voor *S. Typhimurium* (Anoniem, 2002).

De resultaten van ziektemonitoring en/of surveillance wijzen slechts trends aan en zijn geen absolute maatstaven voor de incidentie of prevalentie van ziekten in de populatie. Dit kan wel als de monitoring en/of surveillance gebaseerd is op een aselechte steekproef. Dan spreekt men van een Monitoring en Surveillance Systeem (MOSS).

## DE ASELECTE STEEKPROEF, HOEKSTEEN VAN BESCHRIJVENDE EPIDEMIOLOGIE

### De validiteit van steekproef in een epidemiologische studie

Bij epidemiologisch onderzoek wordt meestal niet de hele populatie opgemeten, maar slechts een steekproef uit de populatie. Dit niet alleen wegens geld- en tijdrestricties, maar ook omdat de precisie van de schatting van de prevalentie of de incidentie niet evenredig toeneemt met de grootte van de steekproef. Uit de steekproef wordt dus de prevalentie of incidentie van de populatie geschat. Dit is evenwel enkel een schatting van de werkelijke parameter. Vandaar dat vaak, gebaseerd op de steekproefinformatie, een betrouwbaarheidsinterval wordt berekend voor de populatieparameter. Dit interval zal dan met een bepaalde betrouwbaarheid (vaak 95%) de waarde van de prevalentie of incidentie van de populatie bevatten.

Bij het nemen van een steekproef uit een populatie zijn er twee aspecten waar voldoende aandacht aan besteed moet worden. Ten eerste moet de populatie waarin men geïnteresseerd is duidelijk gedefinieerd worden in termen van inclusie- en exclusiefactoren. Vervolgens moet de steekproef dusdanig genomen worden dat elk dier dat tot de populatie behoort een zelfde kans heeft om getrokken te worden voor de steekproef. In dat geval wordt van een aselechte steekproef gesproken.

‘Convenience sampling’ is een voorbeeld van een steekproefname die niet voldoet aan de definitie van een aselechte steekproef. Hierbij worden vaak enkel de dieren van de bereidwillige dierenhouders bemonsterd. Het is evident dat dit soort steekproeven geen representativiteit beogen en dat de gegevens niet dienen om extrapolaties te maken naar de volledige populatie. In de praktijk is een epidemiologische studie nooit ideaal, en is de actuele bemonstering vaak een compromis tussen wat wetenschappelijk en praktisch haalbaar is.

### Types van steekproefname

De vijf meest gebruikte steekproefmethoden worden beschreven. Ze worden vaak in verschillende combinaties gebruikt.

#### *Eenvoudige random steekproef*

Een eenvoudige random (aselechte) steekproef is een steekproef waarbij elk dier in de te onderzoeken populatie dezelfde kans heeft om in de steekproef opgenomen (geselecteerd) te worden. De tabellen over de steekproefgrootte vermeld in tekstboeken, bijvoorbeeld Cannon en Roe (1982), zijn gebaseerd op eenvoudige random steekproeven. Wanneer de geteste steekproef geen eenvoudige random steekproef is, zijn deze tabellen niet van toepassing en zullen er over het algemeen grotere steekproeven nodig zijn.

Om een eenvoudige aselechte steekproef te kunnen nemen in de populatie, moet er dus een geactualiseerde lijst van dieren beschikbaar zijn (bijvoorbeeld een lijst met oornummers). Eenvoudige manieren om nummers willekeurig te kiezen zijn: een muntstuk opwerpen of gebruikmaken van tabellen met random getallen of van computer random number generator functies. Afgezien van de hoge kosten, heeft een eenvoudige random steekproef ook kans op (toevallige) ondervertegenwoordiging van bepaalde subgroepen, zeker als de steekproef klein is.



### **Systematische steekproef**

In plaats van de dieren door toevalsmechanismen te selecteren, maakt men gebruik van een op voorhand bepaalde klassering van de dieren. De dieren worden dus geselecteerd voor de steekproef op gelijke intervallen in een populatie. Een lijst van studie-eenheden die gerangschikt zijn, moet dus aanwezig zijn. Nadat men de minimale steekproefgrootte vastgesteld heeft, bepaalt men het steekproefinterval:

$$k = \frac{n}{N} = \frac{\text{steekproefgrootte}}{\text{populatieomvang}}$$

Daarna neemt men elk  $(1/k)^{\text{de}}$  dier van die lijst, te beginnen met een initieel dier dat willekeurig gekozen wordt.

#### *Voorbeeld*

Steekproefgrootte = 20, populatiegrootte = 200

$k = 0,1$ .

Dan kiest men een cijfer tussen 1 en 10 (bijvoorbeeld 2), en men selecteert dan systematisch elk volgend  $(1/k)^{\text{de}}$  dier. Men neemt dus nummer 2, 12, 22, ..., 112, 122, 132, ...

Systematisch een steekproef nemen is meestal eenvoudiger dan een eenvoudige random steekproef en in sommige gevallen de enige praktische methode, omdat in de praktijk meestal niet elk dier kan worden genummerd. Er moet bij een systematische steekproef aandacht worden geschonken aan het voorkomen van cyclische fluctuaties in de populatie. Het steekproefinterval mag niet samenlopen met het fluctuatie-interval. Bij een systematische steekproef is er tevens kans op ondervertegenwoordiging van subgroepen.

#### *Voorbeeld*

In het kader van een Aujeszky survey werd binnen elk geselecteerd varkensbedrijf een systematische steekproef van de jonge zeugen bemonsterd door de bedrijfsdierenartsen (Boelaert *et al.*, 1999).

### **Gelede of gestratificeerde steekproef**

Wanneer de te selecteren steekproef klein is in vergelijking met de totale populatie, is het aanneemelijk dat bij een eenvoudige random steekproef van de totale populatie toevallig enkele strata behoorlijk ondervertegenwoordigd (of zelfs afwezig) kunnen zijn. Dit kan worden voorkomen door het nemen van een gestratificeerde steekproef. Elk stratum (sub-

groep) van de totale populatie is dan voldoende vertegenwoordigd en de steekproef is dus beter verdeeld. Voor gelede steekproeven moet men lijsten per stratum hebben. De variantie van dit soort steekproeven is daarenboven minimaal en kleiner dan deze bekomen via een eenvoudige random steekproef. De analyse van de resultaten is echter complexer.

#### *Voorbeeld*

In 1998 werd een survey van slachtrunderen georganiseerd om de prevalentie van besmetting met PCB's/dioxinen te schatten. Deze steekproef was gestratificeerd naar de leeftijd van de runderen, als ook naar de provincie van herkomst (Saegerman *et al.*, 2002).

### **Clustersteekproef**

Bij een clustersteekproef worden groepen of clusters van dieren gekozen om te worden getest. Dit is operationeel de eenvoudigste steekproef. De groepen kunnen random, systematisch of gestratificeerd worden gekozen. Tot een clustersteekproef wordt vaak overgegaan wanneer er geen betrouwbare lijst met de identificatie van alle individuele leden van de populatie beschikbaar is, maar wel een lijst van clusters (bedrijven, stallen, hokken, enz.).

Bij infectieuze ziekten is het vaak zo dat dieren binnen eenzelfde cluster een gelijke serologische status hebben. Er is een zogenaamd 'clustering effect': de prevalentie van infectieuze ziekten varieert in het algemeen meer tussen dan binnen de bedrijven. Dit heeft tot gevolg dat de verkregen informatie bij een clustersteekproef tot minder nauwkeurige schatters zal leiden dan wanneer een steekproef van dezelfde omvang, systematisch of random genomen van een lijst met individuele dieren, wordt onderzocht.

### **Multi-stage steekproef**

Multi-stage steekproef is de selectie van een steekproef in twee of meer stadia. Men combineert achtereenvolgens meerdere typen van de hiervoor beschreven random steekproeven.

### **Hoe groot moet een steekproef zijn?**

Hier bespreken we de berekening van de steekproefgrootte die nodig is voor verschillende doeleinden. Enkel binaire (positief/negatief) uitkomsten komen aan bod. Er zal worden aangenomen dat de te

testen dieren in de steekproef random worden geselecteerd.

### **Steekproef voor het bepalen van een ziekteprevalentie**

Gewoonlijk wordt op basis van de steekproef een betrouwbaarheidsinterval (BI) afgeleid waarin de prevalentie van de populatie met een bepaalde betrouwbaarheid ( $1 - \alpha$ ) gelegen is. Vaak wordt hiervoor 95% genomen. De steekproefgrootte wordt dan zo genomen dat dit BI maximaal een bepaalde breedte,  $L$ , heeft. Tenslotte moet ook een waarde opgegeven worden voor de te verwachten steekproefprevalentie  $\hat{\pi}$ . De benodigde steekproefgrootte wordt dan gegeven door

$$n = z_{1-\alpha}^2 \frac{\hat{\pi}(1-\hat{\pi})}{L^2}$$

met  $n$  = de steekproefgrootte  
 $z$  = de z-waarde voor de betrouwbaarheid, uitgedrukt als fractie (1,96 voor 95% betrouwbaarheid)  
 $\hat{\pi}$  = de verwachte (a priori) steekproefprevalentie  
 $L$  = de nauwkeurigheid (maximaal toegestane absolute fout)

Hierbij komt  $z_{1-\alpha}$  overeen met de waarde uit de standaard normale verdeling waarvoor er een kans bestaat gelijk aan  $(1 - \alpha)$  om een waarde links ervan (of kleiner) te observeren ( $P(Z_{1-\alpha}) = 1 - \alpha$ , met  $Z$  de standaard normale verdelingsfunctie).

Voor het berekenen van de steekproefgrootte ( $n$ ) dienen vooraf een aantal keuzes gemaakt te worden. Ten eerste is er de te verwachten (a priori) steekproefprevalentie, die bekomen wordt uit pilootonderzoek of literatuur. Een a priori steekproefprevalentie dicht bij 0% of 100% vergt de kleinste steekproef. Ten tweede moet men de vereiste nauwkeurigheid in de schatting van de prevalentie aangeven. Een nauwkeuriger schatting vergt een grotere steekproef. Vaak wordt een nauwkeurigheid van 5 of 10% gepland. Tenslotte is er de betrouwbaarheid van de prevalentieschatting. Een grotere betrouwbaarheid vereist een grotere steekproefgrootte. Vaak wordt een 95% betrouwbaarheid aangehouden. Wanneer we de betrouwbaarheid verhogen van 95% naar 99%, hebben we een ongeveer tweemaal grotere steekproefgrootte nodig.

### **Opmerkingen**

1) De aangehaalde formule voor de bepaling van de steekproefgrootte is geldig voor zeer grote (oneindige) populaties. In de praktijk is dit een populatiegrootte vanaf 100.000 dieren. Voor steekproeven in kleinere populaties is er een correctie nodig.

$$n_{corr} = \frac{n}{1+f}$$

met  $n_{corr}$  = de steekproefgrootte gecorrigeerd voor kleinere populaties  
 $n$  = de steekproefgrootte voor een oneindig grote populatie  
 $f$  = de steekproeffractie  
 =  $n/N$   
 = (standaard berekende steekproefgrootte) / (populatiegrootte)

De steekproefgrootte die nodig is voor het schatten van de prevalentie neemt toe met de grootte van de populatie.

2) Belangrijk is dat de verkregen steekproefgrootte, een getal, slechts een richtlijn is. Gezien er sowieso steeds non-responders zijn, is het goed steeds een percentage bijkomend te bemonsteren, ter vergelijking met hetgeen theoretisch berekend werd.

3) *Steekproefgrootte bij cluster- en multistage steekproeven:*

*Voor het berekenen van de steekproefgrootte bij clustering en multi-stage steekproeven, wat het geval is bij prevalentieonderzoek op populatieniveau, moet men bijkomend op voorhand kennis vergaren omtrent de variatie van de prevalentie tussen en binnen de bedrijven (clusters). De verschillen in prevalentie tussen bedrijven zijn dan namelijk groter dan binnen bedrijven. Het overgrote deel van zieke dieren bevindt zich op een relatief klein aantal bedrijven. Het gevolg is dat er bij een regio-survey of een nationale survey relatief meer bedrijven moeten bemonsterd worden dan dieren binnen het bedrijf. Een maat voor de clustering van infectie is de intracluster (binnenbedrijfs-) correlatiecoëfficiënt.*

*Clustering van infecties heeft een invloed op de steekproefgrootteberekening. Voor een ruwe benadering kan men de bekomen steekproefgrootte, zoals hierboven aangegeven, met een factor 2 vermenigvuldigen. Een wetenschappelijke steekproefgrootteberekening houdt rekening met een schatting van het clusteringeffect (te wijten aan de bestudeerde infectie), namelijk een schatting van de intracluster correlatiecoëfficiënt via een pilootproject.*

**Steekproef voor het vaststellen van de aanwezigheid van een ziekte (infectie)**

Wanneer we een steekproefgrootte moeten berekenen om een ziekte te kunnen opsporen, moeten we een idee hebben van de minimale prevalentie van deze infectie, als ze in een populatie is geïntroduceerd. Hierop wordt niet ingegaan.

**Steekproef voor het vaststellen van de afwezigheid van een ziekte (infectie)**

Afwezigheid van infectie in een populatie kan enkel bewezen worden als er een perfecte test bestaat en de hele populatie wordt getest. We gaan er voor de eenvoud van uit dat er een dergelijke perfecte test bestaat. Er zal dan een dusdanige steekproefgrootte gekozen worden zodat bij afwezigheid van geïnfecteerde dieren in de steekproef met een bepaalde betrouwbaarheid (1- ) (geen 100%) kan gesteld worden dat de prevalentie in de populatie maximaal een bepaalde waarde bedraagt.

De benodigde steekproefgrootte wordt dan gegeven door

$$n = \frac{\log(1-\alpha)}{\log(1-\pi)}$$

In het geval van een eindige populatie wordt de steekproefgrootte gegeven door

$$n_{corr} = (1-(1-\alpha)^{1/N\pi})(N-N\pi/2)+1$$

Logischerwijze verwachten we bij snelverspreidende infecties een hoge prevalentie in besmette bedrijven en is er dus slechts een relatief kleine steekproef nodig om afwezigheid van infectie te garanderen. Omgekeerd zal een grote steekproef, gecombineerd met een diagnostisch performante test, de afwezigheid van infectie indiceren voor traagverspreidende infecties.

*Voorbeeld*

Op pluimveebedrijven wordt vaak een beperkt aantal stalen genomen, bijvoorbeeld 3. Is het daarom zinvol om enkel op basis van tenminste 1 positief testresultaat te behandelen tegen coccidiose? Wanneer de test resultaten alle negatief zijn, kunnen er maximaal 6 316 zieke dieren aanwezig zijn op een totaal van 10 000, wanneer we een betrouwbaarheid (1- ) gelijk aan 95% aannemen.

**Uitgewerkt voorbeeld: twee-niveau steekproefgrootteberekening voor het schatten van de bedrijfsseroprevalentie van de ziekte van Aujeszky**

In 1996 werd een eerste Aujeszky survey georganiseerd op Vlaamse varkensbedrijven met zeugen. Het onderzoek gebeurde volgens een twee - niveau steekproef (Boelaert et al., 1999).

*Eerste stap (bepalen van de ziekteprevalentie)*

Als eerste stap werden de te bemonsteren bedrijven geselecteerd uit de centrale geïnformateerde gegevensbank voor de identificatie en registratie van varkens in België (Sanitel-V). Per provincie werd een aantal te bemonsteren bedrijven at random gekozen uit Sanitel-V. Voor elke provincie afzonderlijk werd bepaald hoeveel bedrijven bemonsterd moesten worden, gebaseerd op de grootte van de populatie N (het aantal bedrijven met zeugen in de provincie) met (1- )=0,99 en dus  $z_{0,99}=2,575$ , L =10% en de verwachte steekproefproportie  $\hat{\pi} =50\%$ .

→ de steekproefgrootte (n) die nodig is voor het schatten van de prevalentie van een ziekte in een zeer grote ('oneindige') populatie is

$$n = \frac{(2,575)^2 \cdot 0,5(1-0,5)}{0,1^2} = 165,76 \approx 166$$

→ de steekproefgrootte (n<sub>corr</sub>) die nodig is voor het schatten van een ziekte in een eindige populatie wordt berekend via de hierboven vermelde formule, met de volgende correctie (cf. steekproeftabellen)

$$n_{corr} = \frac{n}{1+f} = \frac{166}{1+166/3.953} = 159,31 \approx 160$$

met 3 953 de populatiegrootte van West-Vlaamse bedrijven met zeugen.

*Tweede stap (vaststellen van de aan- of afwezigheid van de ziekte)*

Als tweede stap werd het aantal zeugen dat per bedrijf diende bemonsterd te worden zo bepaald dat voor een bedrijf met een seroprevalentie van 20% de kans 99% bedroeg dat er minstens één dier in de steekproef gE-positief was.

$$\rightarrow n = \frac{\log(1-\alpha)}{\log(1-\pi)} = \frac{\log(0,01)}{\log(1-0,2)} = \frac{-2}{-0,09691} = 20,63 \approx 21$$

→ de steekproefgrootte (n) die nodig is voor het aantonen van de aan- of afwezigheid van een ziekte in een eindige populatie is (cfr. steekproeftabellen), bijvoorbeeld voor de berekening van het aantal te nemen bloedmonsters op een bedrijf met 100 zeugen waar 20 % van de zeugen besmet zijn met het Aujeszky virus (en antistoffen hebben) :

$$\begin{aligned} n_{corr} &= (1-(1-\alpha)^{1/N\pi})(N-N\pi/2)+1 \\ &= [1-(1-0,99)^{1/20}] \times (100-20/2)+1 \\ &= 19,51 \approx 20 \end{aligned}$$

met N = de populatiegrootte van zeugen op dat bedrijf = 100.

*In de studie werd dus het aantal te bemonsteren jonge zeugen gesteld op 20 voor bedrijven met meer dan 25 jonge zeugen, en op 15 voor bedrijven met 15 tot 25 jonge zeugen. Op bedrijven met minder dan 15 jonge zeugen werden alle jonge zeugen bemonsterd.*

Relevante software voor steekproefgrootteberekening is:

Csurvey

<http://www.ph.ucla.edu/epi/csurvey.html>

Freecalc

[http://www.ausvet.com.au/content.php?page=res\\_software](http://www.ausvet.com.au/content.php?page=res_software)

Survey Toolbox

[http://www.ausvet.com.au/content.php?page=res\\_software](http://www.ausvet.com.au/content.php?page=res_software)

Winepiscope

<http://www.clive.ed.ac.uk/winepiscope/>

Meer uitgebreide informatie betreffende steekproefmethodologie is te vinden in de volgende handboeken: Cochran, 1977; Cannon en Roe, 1982; Foreman, 1991; Fowler, Jr., 1993; Levy en Lemeshow, 1999; Litwin, 1995; Noordhuizen *et al.*, 2001.

## REFERENTIES

- Anderson R.M., Trehwella W. (1985). Population dynamics of the badger (*Meles meles*) and the epidemiology of bovine tuberculosis (*Mycobacterium bovis*). *Philosophical Transaction of the royal Society of London B Biology Science* 310, 327-381.
- Anoniem (2002). Report on Trends and Sources of Zoonotic Agents in Belgium. Data for the Year 2001. *According to Article 5 of Directive 92/117/EEC*.
- Barkema H.W., Westrik I.D., van Keulen K.A.S., Schukken Y.H., Brand A. (1994). The effects of lameness on reproductive performance, production and culling. *Preventive Veterinary Medicine* 20, 249-260.
- Boelaert F., Deluyker H., Maes D., Godfroid J., Raskin A., Varendijck H., Pensaert M., Nauwynck H., Castryck F., Miry C., Robijns J.M., Hoet B., Segers E., Van V.I., Robert A., Koenen F. (1999). Prevalence of herds with young sows seropositive to pseudorabies (Aujeszky's disease) in northern Belgium. *Preventive Veterinary Medicine* 41, 239-255.
- Boelaert F., Biront P., Soumare B., Dispas M., Vanopdenbosch E., Vermeersch J.P., Raskin A., Dufey J., Berkvens D., Kerkhofs P. (2000). Prevalence of bovine herpesvirus-1 in the Belgian cattle population. *Preventive Veterinary Medicine* 45, 285-295.
- Bosch J.C., De J.M., Franken P., Frankena K., Hage J.J., Kaashoek M.J., Maris-Veldhuis M.A., Noordhuizen J.P., Van der Poel W.H., Verhoeff J., Weerdmeester K., Zimmer G.M., Van O.J. (1998). An inactivated gE-negative marker vaccine and an experimental gD-subunit vaccine reduce the incidence of bovine herpesvirus 1 infections in the field. *Vaccine* 16, 265-271.
- Brochier B., Kieny M.P., Costy F., Coppens P., Bauduin B., Lecocq J.P., Languet B., Chappuis G., Desmettre P., Afiademanyo K. (1991). Large-scale eradication of rabies using recombinant vaccinia-rabies vaccine. *Nature* 354, 520-522.
- Cannon R.M., Roe R.T. (1982). *Livestock disease surveys. A field manual for veterinarians*. Australian Government Publishing Service, Canberra.
- Cochran W.G. (1977). *Sampling techniques*. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Dewulf J., Laevens H., Koenen F., Mintiens K., de Kruif A. (2001). An experimental infection with classical swine fever virus in pregnant sows: transmission of the virus, course of the disease, antibody response, and effect on gestation. *Journal of Veterinary Medicine B*. 48, 583-591.
- Dye C., Killick-Kendrick R., Vitutia M.M., Walton R., Killick-Kendrick M., Harith A.E., Guy M.W., Canavate M.C., Hasibeder G. (1992). Epidemiology of canine leishmaniasis: prevalence, incidence and basic reproduction number calculated from a cross-sectional serological survey on the island of Gozo, Malta. *Parasitology* 105 (Pt 1), 35-41.
- Foreman E.K. (1991). *Survey sampling principles*. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Fowler F.J., Jr. (1993). *Survey Research Methods*. Sage Publications, Inc., London.
- Hage J.J., Schukken Y.H., Barkema H.W., Benedictus G., Rijsewijk F.A., Wentink G.H. (1996). Population dynamics of bovine herpesvirus 1 infection in a dairy herd. *Veterinary Microbiology* 53, 169-180.
- Haine D., Boelaert F., Pfeiffer D.U., Saegerman C., Lonneux J.-F., Losson B., Mintiens K. (2004). Herd-level seroprevalence and risk-mapping of bovine hypodermosis in Belgian cattle herds. *Preventive Veterinary Medicine* 65, 93-104.
- Imberechts H. (1997). Detection of Salmonella in Poultry in Belgium. In: Elbers A. R. W. (Editor). *Biologie en Management van Dierziekte-uitbraken*. Studiedag V.E.E. – V.E.E.C. Boxtel, Nederland.
- Laevens H., Koenen F., Deluyker H., de Kruif A. (1999). Experimental infection of slaughter pigs with classical swine fever virus: transmission of the virus, course of the disease and antibody response. *The Veterinary Record* 145, 243-248.
- Lam T.J.G.M., Dejong M.C.M., Schukken Y.H., Brand A. (1996). Mathematical modeling to estimate efficacy of postmilking teat disinfection in split-udder trials of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 79, 62-70.
- Levy P.S., Lemeshow S. (1999). *Sampling of Populations: Methods and Applications*. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Litwin M.S. (1995). *How to measure survey reliability and validity*. Sage Publications, Inc., London.



- Lord C.C., Woolhouse M.E.J., Barnard B.J.H. (1997). Transmission and distribution of virus serotypes: African horse sickness in zebra. *Epidemiology and Infection* 118, 43-50.
- Maes D., Deluyker H., Verdonck M., Castryck F., Miry C., Vrijens B., Ducatelle R., de Kruif A. (2000). Non-infectious herd factors associated with macroscopic and microscopic lung lesions in slaughter pigs from farrow-to-finish pig herds. *The Veterinary Record* 148, 41-46.
- Maes D., Larriestra A., Deen J., Morrison R. (2001). A retrospective study of mortality in grow-finish pigs in a multi-site production system. *Journal of Swine Health and Production* 9, 267-273.
- Moerman A., Straver P.J., De Jong M.C., Quak J., Baanvinger T., van Oirschot J.T. (1993). A long term epidemiological study of bovine viral diarrhoea infections in a large herd of dairy cattle. *The Veterinary Record* 132, 622-626.
- Noordhuizen J.P., Frankena K., Thrusfield M.V., Graat E.A.M. (2001). *Application of Quantitative Methods in Veterinary Epidemiology*. Wageningen Pers, Wageningen.
- Roberts M.G. (1992). The dynamics and control of bovine tuberculosis in possums. *IMA Journal of Mathematics in Medicine and Biology* 9, 19-28.
- Rogers D.J. (1988). A general model for the African trypanosomiasis. *Parasitology* 97, 193-212.
- Saegerman C., Berkvens D., Boelaert F., Speybroeck N., Van Vlaenderen I., Lomba M., Ermens A., Biront P., Broeckaert F., De Cock A., Mohimont L., Demont S., De Poorter G., Torfs G., Robijns J.M., Monfort V., Vermeersch J.P., Lengelé L., Bernard A. (2002). Detection of Polychlorinated Biphenyls and Dioxins in Belgian Cattle and Estimation of the Maximal Potential Exposure in Humans through Diets of Bovine Origin. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A* 65, 1289-1305.
- Saegerman C., Thiange P., Limbourg B., Conotte G., Petit N., Thiry G., Botton Y., Pelzer P., Mullier P., Godfroid J., Dufey J. (1997). Etude épidémiologique descriptive et identification de facteurs de risque des réactions sérologiques faussement positives en brucellose bovine dans le sud de la province de Namur (Belgique). *Epidémiologie et Santé Animale* 06.04.1-06.04.3.
- Stewart G.T. (1970). Epidemiological approach to assessment of health. *Lancet* 2, 115-119.
- Thomson G.R., Vosloo W., Esterhuysen J.J., Bengis R.G. (1992). Maintenance of foot-and-mouth disease virus in buffalo (*Syncerus caffer* Sparrman, 1779) in Southern Africa. *Revue scientifique et technique de l'Office international des épizooties* 11, 1097-1107.
- Verloo D., Dewulf J., Maes D., Mintiens K., Laevens H., Boelaert F. (2005). Diagnostische testen: validatie, interpretatie en de gevolgen op de besluitvorming. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 74, 27-33.
- Woolhouse M.E.J., Haydon D.T., Pearson A., Kitching R.P. (1996). Failure of vaccination to prevent outbreaks of foot-and-mouth disease. *Epidemiology and Infection* 116, 363-371.