

Nieuwe qPCR biedt inzicht in verloop van coccidiose-infecties

Coccidiose is een parasitaire darminfectie die in de pluimveehouderij veel schade veroorzaakt. Inzicht in het verloop en de coccidiosesoorten betrokken bij uitbraken is nodig voor een goede behandeling. De nieuwe qPCR-methode kan daarbij een belangrijk hulpmiddel zijn.

Om een correct beeld te krijgen van een coccidiose-infectie moet sectie op dieren en controle van de darminhoud met behulp van een microscoop gebeuren. Deze manier van werken is echter arbeidsintensief. Tevens bestaat de kans dat een aantal coccidiosesoorten over het hoofd wordt gezien. Met behulp van een nieuwe kwantitatieve polymerase kettingreactie, in het Engels quantitative Polymerase Chain Reaction (qPCR) techniek, is het sinds kort mogelijk om via mestmonsters snelle en specifieke analyses voor coccidiose uit te voeren. Deze techniek toont niet alleen de betrokken coccidiosesoorten aan, maar ook de infectiedruk in aantallen oöcysten equivalenten per gram mest. De nieuwe analysemethode biedt bovendien de mogelijkheid om inzichtelijk te maken of de ingezette anticoccidiosemaatregelen via voer, management en/of hygiëne effectief zijn.

Waarom deze nieuwe test?

De qPCR biedt belangrijke voordelen ten opzichte van de tot nu toe gebruikte (oude) methode (oöcystentelling en de letselscore middels sectie). Ten eerste kan met de qPCR de diagnose coccidiose tot op soortniveau in mestmonsters worden vastgesteld. Bij de oude methode wordt een coccidiose-infectie vastgesteld met behulp van sectie op slechts een beperkt aantal dieren. Bij het sectieonderzoek worden van de zeven bij pluimvee voorkomende Eimeriasoorten er maximaal vijf vastgesteld. Twee soorten (*E. praecox* en *E. mitis*) zijn niet goed te identificeren omdat zij geen typisch herkenbare letsels in de darm veroorzaken. Daarnaast is het soms lastig om bepaalde soorten (bijvoorbeeld

E. maxima) te diagnosticeren omdat de typische letsels soms moeilijk te herkennen zijn, zeker wanneer de infectiedruk laag is. Daarnaast wordt om de coccidiose-infectiedruk op bedrijven te meten een OPG-bepaling gedaan waarmee het aantal oöcysten per gram mest wordt vastgesteld, maar hierbij kunnen de betrokken Eimeriasoorten niet worden geïdentificeerd. In de qPCR wordt echter, wat een tweede voordeel is, het aantal oöcysten per gram mest per Eimeriasoort gegeven, waardoor een goed beeld ontstaat welke soorten de infectiedruk veroorzaken. Zo kan bij gebruik hiervan in het veld de prevalentie en infectiedruk van alle Eimeriasoorten goed in beeld worden gebracht. Een derde voordeel van de qPCR-methode is dat het niet meer nodig is om dieren op te offeren voor sectie om tot een



diagnose te komen. Men kan volstaan met een qPCR-onderzoek van een betrouwbaar genomen mestmonster.

Onderzoek in de praktijk

Om de waarde van deze qPCR-techniek te testen is in de praktijk een onderzoek op een aantal vleeskuikenbedrijven uitgevoerd waarbij de qPCR-bepaling vergeleken is met de klassieke OPG-bepaling. In dit onderzoek werd aangetoond dat de overeenkomst tussen de qPCR en de OPG-tellingen goed is. Bovendien geeft de test

aan welke coccidiosesoorten betrokken zijn bij de coccidioseproblemen. De coccidiose-qPCR is tevens ingezet om het effect van interventie maatregelen inzichtelijk te maken. Hieronder wordt, als voorbeeld, het verloop van een coccidiose-infectie weergegeven vóór het nemen van specifieke maatregelen tegen coccidiose (Figuur A) en nadat men is overgestapt op een ander anticoccidiosemiddel in een daaropvolgende mestrunde (Figuur B). In Figuur B is duidelijk te zien dat de infectiedruk nagenoeg is verdwenen en slechts aan het einde van de

ronde oploopt voor *E. acervulina*. Behalve *E. acervulina* aan het einde van de ronde zijn er ook *E. maxima*-oöcysten in de periode tussen 22 en 27 dagen waargenomen. Het voorbeeld is afkomstig van het praktijkonderzoek en geeft aan dat een optimale interventie, in dit geval voor *E. acervulina*, mogelijk is, maar de genomen maatregelen zullen niet altijd zo'n ideale uitkomst hebben. Reden te meer om te blijven onderzoeken.

GD-onderzoeker Herman Peek aan het werk

Wanneer en hoe vaak moet de qPCR ingezet worden?

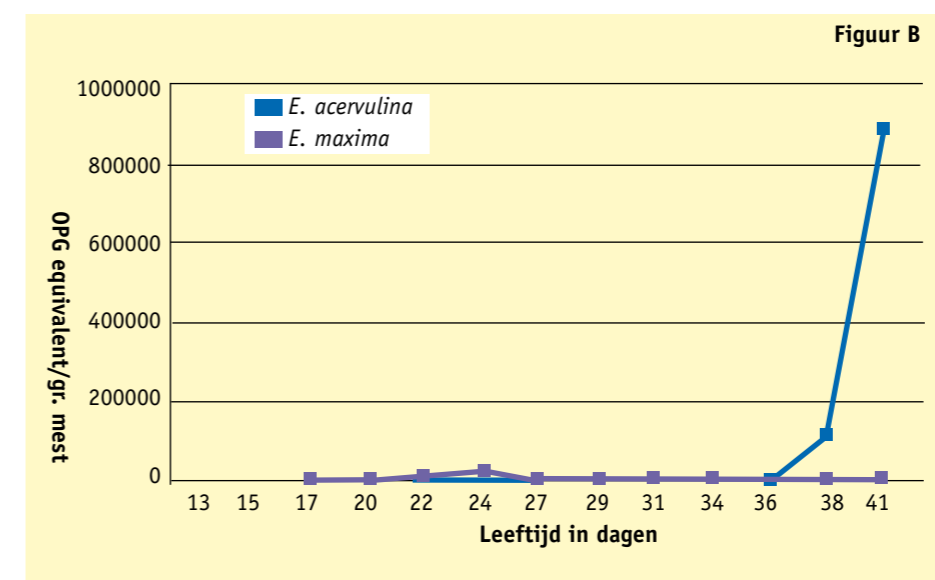
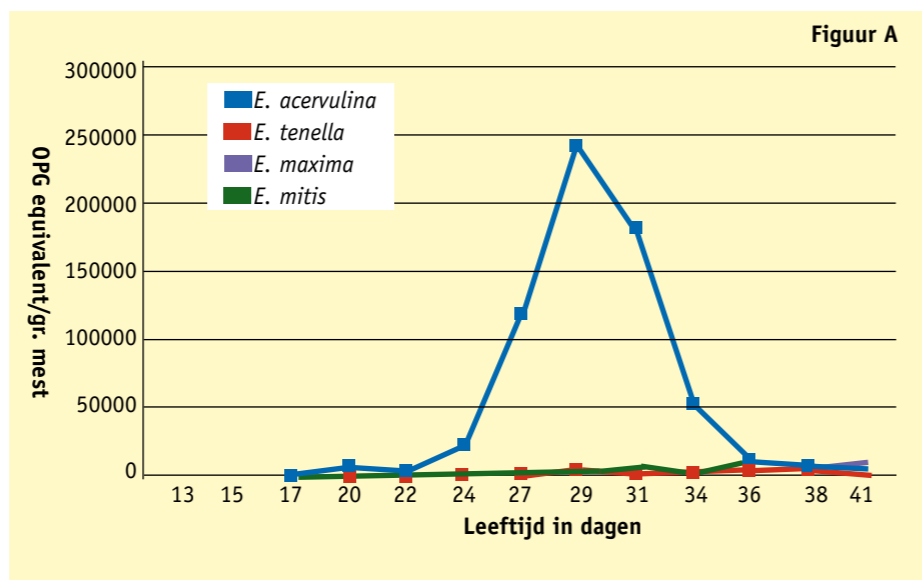
Om het verloop van een coccidiose-infectie bij vleeskuikens optimaal te monitoren zal in beginsel tijdens de mestperiode vanaf 18 dagen leeftijd elke drie dagen een mestmonster onderzocht moeten worden. Bij een lager aantal inzendingen kunnen belangrijke stijgingen of afnames van de infectiedruk per Eimeriasoort gemist worden. De uitslag van het onderzoek vermeldt het aantal oöcysten equivalenten per gram mest per aangetoonde Eimeriasoort. Afhankelijk van het beeld van een eerste ronde kan voor de volgende ronde een ander schema gehanteerd worden. Dit kan worden ingeschat door uw dierenarts, eventueel in overleg met de veevoorzorlichter.

Interpretatie uitslagen

Een juiste interpretatie van de uitslagen van een qPCR is slechts mogelijk wanneer in een mestrunde voldoende bepalingen zijn uitgevoerd, zodat het verloop van de infectiedruk van de verschillende Eimeriasoorten bekend is. De koppelgeschiedenis en bedrijfsgegevens zijn bij de interpretatie ook van groot belang. Dit kan het beste gedaan worden door uw dierenarts.

Integraties of veevoerbedrijven kunnen met de qPCR een indruk krijgen van de coccidiosestatus van de bedrijven waar zij voer leveren. Het is van belang dat zij de vinger aan de pols houden en tijdig maatregelen nemen wanneer de coccidiosedruk op hun bedrijven toeneemt. De GD wil graag met het uitvoeren van de coccidiose-qPCR de voerfabrikant een instrument geven om een beter beeld te krijgen van de situatie bij hun klanten.

Dit onderzoek is uitgevoerd met financiering van het PPE.



Het verzamelen en opsturen van monsters

Per stal, per monsternamen is één mengmonster nodig van minimaal 50 verse droppings (mesthoopjes, zowel dunne darm- als blindedarmmest) verzameld en verdeeld genomen over de stal. De monsters kunnen op het bedrijf in de koelkast in mestmonsterpotten van 500 ml bewaard worden en kunnen één maal per week naar de GD opgestuurd worden. Dit hoeft niet gekoeld.