

PCR-test voor aantonen respiratoire besmettingen

Een PCR-test is een zeer gespecialiseerde test waarbij gebruik wordt gemaakt van dure machines en gespecialiseerde laboranten. De test wordt tegenwoordig veel gebruikt voor het aantonen van respiratoire aandoeningen bij pluimvee. Het nemen van een tracheaswab vergt enige oefening.

MERLIJN KENSE en TEUN FABRI, dierenartsen pluimveegezondheidszorg bij de Gezondheidsdienst voor Dieren

Herkent u de situatie: plotseling is de eiproductie lager dan op de voorgaande dagen, of plotseling is de voeropname van de vleeskuikens minder en is de groei eruit. Dit kan te maken hebben met het klimaat of management, het kan ook veroorzaakt worden door afwijkingen in het voer of water. Maar het kan ook zijn dat er sprake is van een ziekte. Zeker wanneer ook nog blijkt dat de sterfte oploopt, wordt deze verdenking sterker. Het vaststellen van een ziekte of een besmetting kan op verschillende manieren. In een aantal gevallen kan de dierenarts met behulp van een sectie al aangeven wat er aan de hand is. In geval van acute coccidiose kan de dierenarts op het oog en met behulp van een microscoop de oorzaak vaststellen. In veel gevallen kan dat echter niet en is nader laboratoriumonderzoek nodig. Bij een bacteriële ziekte kan op het oog vaak de verdenking worden uitgesproken, maar is een bacteriologische kweek nodig om vast te stellen om welke bacterie het gaat.

Virusonderzoek

Bij een virusziekte was het onderzoek voorheen veel moeilijker. Men kon proberen het virus te kweken, maar dit is een duur en langdurig onderzoek. Delen van het ontstoken orgaan worden vermalen en ingespoten in broedeieren die 8 dagen bebroed zijn. De afwijkingen die na een aantal dagen ontstaan aan het ontwikkelende embryo, geven een indicatie om welk virus het gaat. Met behulp van beken-

de afweerstoffen kan een eventueel aanwezig virus dan getypeerd worden. Wanneer er te weinig virus in het ontstoken materiaal aanwezig is, kan er na het bebroeden van het ei waarin het materiaal ingespoten is te weinig virus aanwezig zijn om dit met de afweerstoffen zichtbaar te maken. Daarom worden delen van het oorspronkelijke ei gemalen en opnieuw ingespoten in een volgend ei. Dit proces kan zich een aantal keren herhalen voordat het virus uiteinde-



Swabs zijn er in soorten en maten. Voor de PCR-test heeft een swab met aluminium steel de voorkeur.

FOTO: GD

lijk is aangetoond; dan kun je 4 weken verder zijn. In de praktijk werden de kosten van de dure viruskweek vaak uitgespaard door bij het probleem gewoon af te wachten en 3 weken later bloedonderzoek te laten uitvoeren. Dan moet je echter heel gericht gaan zoeken. Bij een algemene viruskweek groeien (bijna) alle aanwezige virussen, bij bloedonderzoek moet je aangeven waar je naar wilt zoeken.

Moleculaire technieken

Met de moleculaire technieken bestaan er tegenwoordig alternatieven voor de bacterie- en viruskweek. Hierbij wordt gebruik gemaakt van genetisch materiaal dat specifiek is voor een groep virussen of voor een specifiek virus binnen deze groep. Dit gene-

tische materiaal wordt met de moleculaire technieken vermeerderd tot een niveau dat het meetbaar is. Deze techniek heet PCR (een afkorting voor het Engelse *polymerase*

Alleen een juist genomen monster geeft een goed resultaat

chain reaction). Voor deze test hebben we een klein beetje van het ontstekingsmateriaal of ontstekingsvocht nodig. Dit kleine beetje kan verzameld worden met een swab. Welke swab gebruikt moet worden is afhankelijk van naar welke bacterie of virus men wil

laten zoeken. Bij de standaard PCRs is het tegenwoordig niet meer noodzakelijk om bij de swab met bacterie/virus vocht (transport-medium) toe te voegen. Gebruik in ieder

geval geen swabs met houten steel. Deze kunnen een vals positief resultaat geven in een PCR. Swabs met een aluminium steel hebben meerdere voordelen:

1. Deze zijn dunner waardoor het nemen van de tracheaswab eenvoudiger is.

2. Deze zijn te gebruiken in de PCRs voor respiratoire virussen en voor mycoplasma's.

De PCR-test

Een PCR-test is een zeer gespecialiseerde test waarbij gebruik wordt gemaakt van dure machines en gespecialiseerde laboranten. Een laboratorium dat met PCR-technieken ziektekiemen aantoonst, heeft de test uitvoerig getest binnen het eigen laboratorium en maakt vaak gebruik van een PCR-test die het, op basis van wetenschappelijke informatie over de betreffende ziektekiem, zelf ontwikkeld heeft. De ruimte waarin de PCR wordt uitgevoerd moet een volledig beveiligde ruimte zijn omdat het niet mag voorkomen dat deze op enigerlei wijze besmet is

met de ziektekiemen. Dit zou kunnen leiden tot vals-positieve uitslagen. De PCR-techniek is zo gevoelig dat het in het laboratorium mogelijk is een aantal swabs te poolen. Hierdoor wordt het onderzoek relatief goedkoper. Luchtpijpswabs, ook wel tracheaswabs genoemd, kunnen worden gebruikt voor het aantonen van ziekten zoals *Infectieuze bronchitis (IBV)*, *Infectieuze laryngotracheitis (ILT)*, *Aviaire Influenza (AI)* (uitsluitingsswabs), *Turkey rhinotracheitis (TRT)*, *Mycoplasma gallisepticum (Mg)*, *Mycoplasma synoviae (Ms)* en *Mycoplasma meleagridis (Mm)* in het acute stadium of vlak erna van een verdachte ziekte. Bij IB wordt eerst een PCR uitgevoerd die specifiek is voor IB-virussen. Wanneer deze positief (aangetoond) is, kan een nadere

typering plaatsvinden waarbij wederom moleculaire technieken gebruikt worden. Op deze wijze kan worden gekeken in hoeverre het genetische materiaal overeenkomt met dat van bekende variantstammen. Dit wordt in een percentage weergegeven. Voor een betrouwbare uitslag is het van belang dat de swab op een juiste wijze is genomen. Maar het nemen van tracheaswabs is moeilijker dan het lijkt. Tijdens trainingen, die de GD voor (internationale) dierenartsen organiseert, blijkt dat het niet altijd even eenvoudig is om de swab daadwerkelijk in de luchtpijp te steken ().

Het nemen van de tracheaswab

Hieronder enkele aanwijzingen voor het nemen van een tracheaswab:

1. Neem de tijd! (Het snel nemen van tracheaswabs leidt tot het nemen van een slokdarmswab die zeker een negatief resultaat geeft).
2. Laat het dier op de juiste hoogte goed fixeren: het dier wordt bij de vleugels en de poten vastgehouden en in een recht-opstaande positie aan de monsternemer aangeboden.

3. Duw de larynx naar boven zodat deze zichtbaar wordt in de bek en strek hierbij de nek. Hiervoor zijn meerder methoden. Keuze is afhankelijk van de grootte van het dier en de persoonlijke voorkeur. Op de foto wordt de larynx omhoog geduwd door de ring- en middelvinger.
4. Fixeer de ondersnavel, eventueel met de tong, met de duim.
5. Wacht tot de vogel een ademteug neemt en duw de swab de trachea in.

6. Beweeg de swab enkele keren op en neer om materiaal te verzamelen.
7. Controleer of de swab in de trachea is gegaan en niet in de slokdarm.
 - a. Bij terugtrekken maakt de vogel vaak een korte achterwaartse beweging.
 - b. Vaak maakt de kip bij terugtrekken een niesachtig geluid.
 - c. Als er iets bloed aan de swab zit, weet je zeker dat je goed zat.

- d. Bij terugtrekken kan gecheckt worden of de swab uit de larynx komt.
- e. Als geen van het bovenstaande wordt waargenomen, is de kans groot dat de swab in de slokdarm is gegaan. Swab weggoien en opnieuw proberen!
- f. Plaats de swab in het bijbehorende beschermhuisje.

Zorgvuldig transport

Voor het opsturen naar het laboratorium is het van belang dat de swab gekoeld bewaard wordt. Wanneer de swabs binnen 24 uur bij het laboratorium zijn, is het niet noodzakelijk om koelementen toe te voegen. Tijdens de zomermaanden kan dit echter wel verstandig zijn. Wanneer de monsters niet direct onderzocht gaan worden, is het verstandig om de swabs

in te vriezen. Op deze manier is het mogelijk regelmatig swabs te nemen en alleen die swabs te onderzoeken die genomen zijn net voor of tijdens een probleem.

FOTO'S: GD



De kip moet goed vastgehouden en recht-opstaand aan de monsternemer worden aangeboden.



De larynx moet goed zichtbaar zijn. Hier wordt die omhoog geduwd door ring- en middelvinger.



Als de vogel een ademteug neemt, kan de swab in de trachea worden gebracht.



Bij het terugtrekken kan worden gecontroleerd of de swab uit de larynx komt en niet uit de slokdarm.