



# Van slofje tot serotypering

**Als je een infectie met salmonella wilt aantonen kun je kiezen uit veel soorten onderzoek, denk aan omgevings- of mestonderzoek. In het laatste geval kunnen salmonella-slofjes uitkomst bieden. Maar hoe gaat dat precies in z'n werk en wat gebeurt er met de slofjes zodra ze binnen zijn bij GD?**

Eerst even opfrissen; hoe zat het ook alweer met die slofjesmethode? Met behulp van de slofjes kunt u mest verzamelen voor bacteriologisch onderzoek. Het grote voordeel hiervan is dat er nauwkeurig te bepalen is waar en wanneer een besmetting plaatsvindt, zodat er een gericht en efficiënter plan van aanpak kan worden opgesteld. De bemonstering kan door de veehouder of zijn/haar medewerker zelf worden uitgevoerd.

### Aan de slag

Zodra u de monsters heeft genomen en de slofjes volgens de richtlijnen naar GD heeft gestuurd, worden de monsters voorzien van een monsteridentificatie. De microbiologisch analist neemt de monsters in ontvangst en start met het onderzoek. Het duurt ongeveer vier tot zeven dagen voor de uitslag bekend is. Wat er in de tussentijd met uw monsters gebeurt, ziet u in de kalender hiernaast.

### DAG 1 – START ONDERZOEK

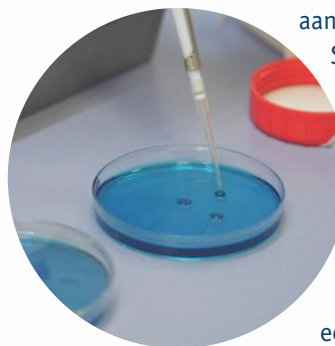
De mestmonsters die binnenkomen bevatten vele soorten bacteriën en daar moet je salmonella in zien te vinden. Je zoekt dus naar een bepaalde kiem in een grote hoeveelheid andere kiemen. In sommige gevallen zijn de bacteriën waarnaar je op zoek bent uitgedroogd of beschadigd. Om de conditie van deze bacteriën te verbeteren krijgen ze eerst een oppepper in gebufferd peptonwater (BPW). Dit is een rijke bouillon waarin alle bacteriën groeien. Om ervoor te zorgen dat ze vermenigvuldigen (nodig voor de volgende stap) en een optimale conditie verkrijgen, gaan ze 16 tot 20 uur in een broedstof bij 37 graden Celsius.



### DAG 2 – START SELECTIEVE OPHOPING MSRV

Na een nacht in de broedstof start de selectieve ophoping. Van de voorophoping in BPW worden drie druppels met een gezamenlijk volume van 0.1 milliliter op een plaat met MSRV overgebracht; verspreid over de plaat. MSRV is een semi-vaste voedingsbodem, omdat het maar een kleine hoeveelheid agar (een bindmiddel) bevat. Na het bebroeden van de plaat kan op basis van de kleur van het bacteriemateriaal en de aanwezigheid van een beweeglijkheidszone worden bepaald of er salmonellabacteriën in het monster aanwezig zijn.

Salmonellabacteriën bewegen zich in het MSRV-medium vanuit het centrum van de entplaats (een druppel) naar buiten. Dit is zichtbaar als een grijswitte zone tegen een blauwe achtergrond.



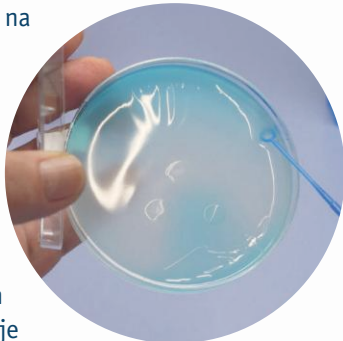


Niet-beweeglijke salmonella's vormen alleen een grijswit centrum. Het medium bevat geen electieve bestanddelen (die zorgen ervoor dat de gewenste bacteriën een kenmerkend uiterlijk krijgen), maar heeft wel selectieve componenten, die de groei van de meeste ongewenste organismen remmen. Bovendien wordt de selectiviteit vergroot door een hoge (kritische) bebroedingstemperatuur van 41,5 graden Celcius.

Bovendien wordt de selectiviteit vergroot door een hoge (kritische) bebroedingstemperatuur van 41,5 graden Celcius.

#### DAG 3 en 4 – BEOORDELING MSRV

De MSRV-plaat wordt zowel na 24 als na 48 uur bebroeden beoordeeld. Als je na twee dagen geen beweeglijkheidszone in de plaat ziet, is het onderzoek afgerond (uitslag: geen salmonella aangetoond). Als er wel sprake is van een beweeglijkheidszone, weet je nog niet zeker of het salmonella is. Salmonella is namelijk niet de enige bacterie die in het medium kan groeien en bewegen. Om de groei nader te onderzoeken wordt bacteriemateriaal van de rand van een beweeglijkheidszone afgestreken op een XLD- en BGA-plaat. Dit zijn isolatiemedië specifiek ontwikkeld voor salmonella. Deze media bevatten zowel electieve als selectieve stoffen. De platen worden overnacht bebroed bij 37 graden Celsius.



#### DAG 4 en 5 – BEOORDELING XLD EN BGA

Tijd om de XLD- en BGA-platen te beoordelen op specifieke groei. Salmonella vormt op XLD- en BGA-platen roze kolonies; op XLD vaak met een zwart hof. Bij de aanwezigheid van kenmerkende salmonellakolonies voert de analist een bevestiging uit.



#### DAG 5 en 6 – BEVESTIGING EN SEROTYPERING

Verdachte kolonies worden getest met de MALDI Biotyper, waarmee bacteriën snel en nauwkeurig kunnen worden geïdentificeerd. Met de MALDI Biotyper wordt een massaspectrum gemaakt van een groep veelvoorkomende eiwitten van de bacterie. Deze eiwitten zijn zeer stabiel en gezamenlijk uniek voor de bacteriesoort; het massaspectrum is dan ook een soort 'vingerafdruk' van de bacterie. Deze 'vingerafdruk' wordt vervolgens in een database vergeleken met daarin opgeslagen massaspectra van bekende bacteriesoorten. Op basis van het aantal overeenkomstige pieken wordt een identificatiescore toegekend, waarmee de identiteit van de verdachte bacterie wordt bepaald.

Er zijn meer dan 2500 salmonella-serotypen bekend. Salmonella beschikt over een combinatie van twee tot drie antigenen. Deze combinatie is per salmonella-serotype uniek. GD toont tien van de meestvoorkomende serotypen aan.

#### DAG 6 en 7 – AFRONDING SEROTYPERING

Afhankelijk van het eerdere proces wordt op dag zes of dag zeven van het onderzoek de serotypering afgerond. Dit betekent dat dan ook het typeringsresultaat van de kweek bekend is. Het laboratorium kan nu, als er iets is gevonden, aan u als houder doorgeven welk salmonella-serotype is aangetoond.