



*“PCR is als zoeken naar een speld in een hooiberg door er met technologie een berg spelden van te maken”*

*Ingrid Wiggers is een van de GD-onderzoeksanalisten die in het lab werken aan de ontwikkeling van de PCR.*

## ONTWIKKELING VAN EEN DARMPAKKET VOOR BIGGEN

# Vlotte diagnose bij diarree

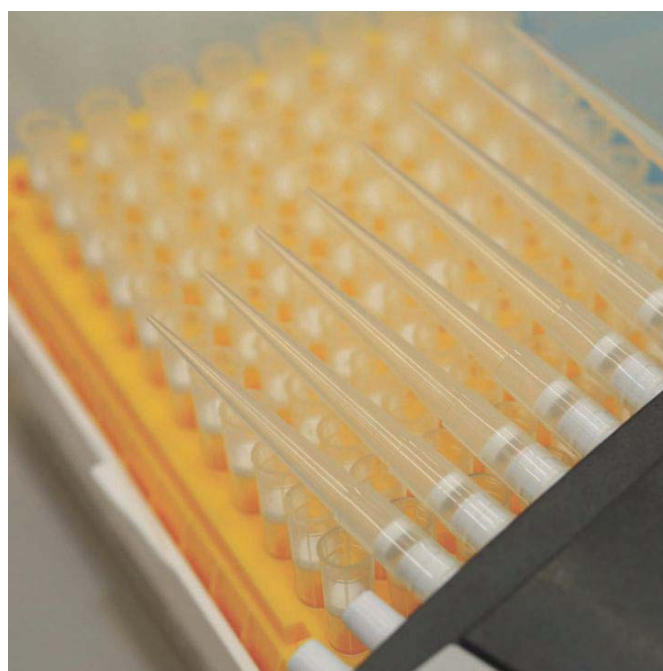
**Bij biggen met diarree heeft een dierenarts vaak wel vermoedens wat de verwekker is, maar om te kunnen bepalen wat de beste aanpak is, heeft hij aanvullende diagnostiek nodig. GD ontwikkelt daarom een darmpakket voor biggen waarmee de dierenarts vlot uitsluitsel krijgt welke bacterie of welk virus de boosdoener is. Onderzoeker Remco Dijkman van de Research & Development-afdeling (R&D) vertelt hoe GD-producten als dit darmpakket tot stand komen.**

Het is een probleem dat op veel varkensbedrijven voorkomt: darmproblemen bij jonge biggen. Diarree bij zuigende en gespeende biggen kan ertoe leiden dat de dieren uitdrogen. Om te bepalen hoe een diarree-uitbraak moet worden behandeld, moet een dierenarts weten wat de veroorzaker van de darmproblemen is. Dat kunnen verschillende bacteriën of virussen zijn. Vaak kan een dierenarts uit het ziektebeeld al veel afleiden, maar hij heeft aanvullende diagnostiek nodig om zeker te weten welke specifieke bacterie of welk virus de diarree veroorzaakt. Daar baseert hij vervolgens zijn behandelplan op.

## PCR

Aan die aanvullende diagnostiek werken onderzoeker Remco Dijkman en twee collega's van de R&D-afdeling samen met een varkensdierenarts van GD. Ze ontwikkelen een 'darpakket' voor biggen dat in mei 2017 bij GD beschikbaar komt. Dit pakket maakt gebruik van *ESwabs*, kunststof wattenstaafjes waarmee de varkenshouder of dierenarts een mestmonster neemt. Dat monster gaat in een buisje met een klein beetje vloeistof: zo krijg je een mestmengsel waaruit je kunt bepalen welke bacteriën en virussen in de mest zitten.

Remco en zijn collega's passen in het darmpakket de techniek *polymerase chain reaction* (PCR) toe. "We omschrijven dat altijd als zoeken naar een speld in een hooiberg door er met deze technologie een berg spelden van te maken", legt hij uit. "Met PCR gaan we op zoek naar een uniek stukje DNA voor een bepaalde bacterie(stam), virus- of een virulentiefactor. Dat specifieke stukje isoleren we en gaan we selectief vermeerderen. Door dat stukje DNA zichtbaar te maken, weten we of een specifieke bacterie of een bepaald virus aanwezig is in het monster."



## “Ziekteverwekkers zorgen op veel varkensbedrijven voor darmproblemen”

### Vier fasen

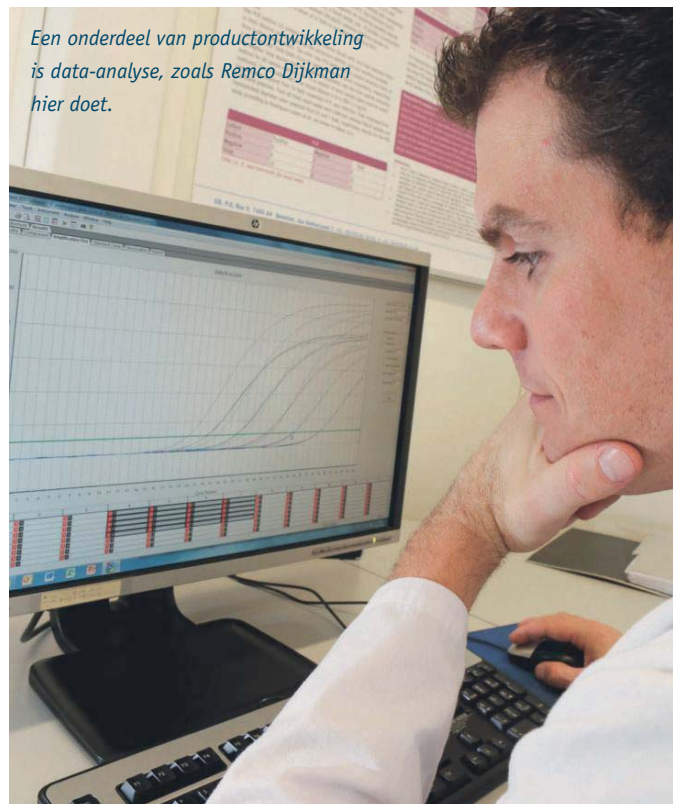
Nieuwe producten die gebruikmaken van de PCR-techniek, zoals dit darmpakket voor biggen, maar bijvoorbeeld ook testen voor luchtweginfecties, ontwikkelen de onderzoekers van GD altijd in vier fasen. Het begint bij het vaststellen welke mogelijke ziekteverwekkers moeten worden opgespoord met de test. De tweede stap is bepalen wat de unieke stukjes DNA of RNA (allebei genetisch materiaal) zijn die je nodig hebt voor de PCR. In fase drie en vier moet de test worden gevalideerd: eerst in het lab, vervolgens in het veld met monsters van in dit geval varkensbedrijven.

### DNA-databank

Voor de tweede fase in de productontwikkeling, het bepalen van het unieke stukje DNA of RNA, maken de GD-onderzoekers gebruik van GenBank. Dat is de wereldwijde digitale database met DNA-volgordes. Het hele menselijk genoom zit hierin, net als dat van veel diersoorten, maar ook het DNA van veel bacteriën en virussen.



Het met een ESwab genomen mestmonster gaat in een handig bewaarbusje met een klein beetje vloeistof.



Een onderdeel van productontwikkeling is data-analyse, zoals Remco Dijkman hier doet.

Dat klinkt overigens eenvoudiger dan dat het in de praktijk is, erkent ook Remco. “Vooral bij de coli-bacterie is het lastig het unieke stukje genoom te vinden. *E. coli* is een gewone darmbacterie die je altijd in mest zult aantreffen. We moeten dus zoeken naar een specifiek stukje DNA van de ziekmakende bacterie, maar dat de gezonde coli's niet hebben.”

### Validatie

Is de PCR-ontwikkeling eenmaal afgerond, dan moet de test worden gevalideerd. Dat gebeurt eerst in het lab. Toont de test daadwerkelijk de bacterie of het virus aan waar je naar zoekt, is de vraag waar het dan om draait. Remco: “Daarnaast willen we bepalen hoe gevoelig we kunnen meten. Werkt de test ook als er slechts enkele bacteriën of virussen voorkomen in het monster? Onze PCR-producten meten niet alleen of een bacterie aanwezig is of niet, maar het zijn ook kwantitatieve testen. De uitslag zegt ook iets over de hoeveelheid bacteriën of virussen die aanwezig is.”

In de laatste fase wordt een GD-product gevalideerd in het veld, met monsters van varkensbedrijven waar daadwerkelijk diarreeproblemen zijn. Een test die succesvol is in het lab is een belangrijke eerste stap, maar uiteindelijk moet hij het uiteraard doen met echte monsters.

“We streven naar een heel hoge gevoeligheid en betrouwbaarheid. Er zullen altijd gezonde dieren zijn die toch positief testen en zieke dieren die een negatief testresultaat laten zien. Dat komt bijvoorbeeld doordat net het verkeerde monster is genomen of doordat de test niet gevoelig genoeg is”, licht Remco toe. “Het darmpakket voor biggen wordt geen absolute uitsluitingstest. Het is een ondersteunende screening voor dierenartsen die hun vermoeden ermee kunnen onderbouwen.”

#### Darmpakket mei 2017 op de markt

De ontwikkeling van het darmpakket voor biggen begon in januari 2016. Op dit moment zijn Remco en zijn collega's druk met de labvalidatie. Voor salmonella zijn ze daar al in geslaagd; in het lab zijn nu de verschillende *E. coli*-bacteriën en het rotavirus aan de beurt. Uiteindelijk moet de test vier veelvoorkomende veroorzakers voor diarree kunnen opsporen en onderscheid kunnen maken tussen de verschillende *E. coli*-stammen. Dat helpt de dierenarts enorm bij zijn beslissing voor de juiste vaccinatie of behandeling.

*“We streven naar een heel hoge gevoeligheid en betrouwbaarheid”*

Tegen het eind van dit jaar wil GD de veldvalidaties hebben afgerond, in mei 2017 moet de test beschikbaar komen voor dierenartsen en varkenshouders. Remco kijkt ernaar uit, want het belang van darmgezondheid is hoog. “Diarree is een veelvoorkomend probleem op varkensbedrijven. Straks heeft een dierenarts een extra middel om zijn eigen vermoedens te bevestigen of om andere ziekteverwekkers uit te sluiten.”

