



Van overschoen tot serotypering

Als je een infectie met salmonella wilt aantonen kun je kiezen uit veel soorten onderzoek, zoals bloed-, mest- en omgevingsonderzoek. In het geval van omgevingsonderzoek kunnen overschoenen uitkomst bieden. Maar hoe gaat dat precies in z'n werk en wat gebeurt er met de overschoentjes zodra ze binnen zijn bij GD?

GD heeft twee methoden voor de salmonellakweek: MSRV/MALDI-TOF en MSRV+RVS/Biochemie. Beide methoden voldoen aan de regelgeving. MSRV+RVS/Biochemie bevat een tweede selectieve ophoping en is daardoor gevoeliger, maar ook duurder, en kent een langere doorlooptijd. Deze methode wordt binnenkort vervangen door MSRV+MKTTn/MALDI-TOF.

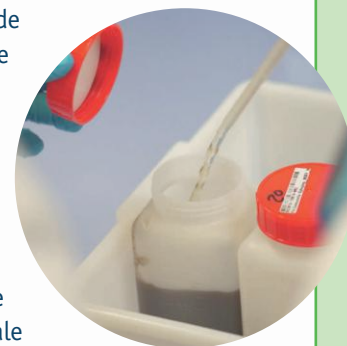
Voor regulier onderzoek is MSRV/MALDI-TOF de meest geschikte methode. In dit artikel vertellen we meer over deze methode.

Aan de slag

Zodra u de monsters heeft genomen en de overschoentjes volgens de richtlijnen naar GD heeft gestuurd, worden de monsters geregistreerd en 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 weekkalender hiernaast.

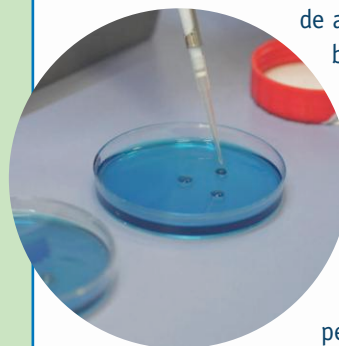
DAG 1 – START ONDERZOEK

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 salmonella-bacteriën in het monster aanwezig zijn. Salmonellabacteriën bewegen zich in het MSRV-medium vanuit het centrum van de entplaats (een druppel) naar buiten. Dit is zicht-

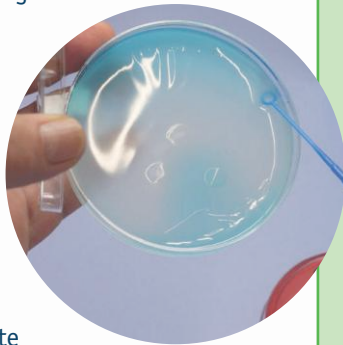




baar als een grijswitte zone tegen een blauwe achtergrond. Omdat de plaat alleen als positief wordt beoordeeld als de beweeglijkheidszone aanwezig is, worden de niet-beweeglijke *Salmonella Gallinarum* en *S. Pullorum* dus niet met deze methode aange- toond. Het medium bevat geen (electieve) bestanddelen die zorgen 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.

DAG 3 of 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 aan- getoond). 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 beweeglijk- heidzone afgestroken op een XLD- en BGA-plaat. Dit zijn isolatiemedia specifiek ont- wikkeld voor salmonella. Deze media bevatten zowel electieve als selectieve stof- fen. De platen worden overnacht bebroed bij 37 graden Celsius.



DAG 4 of 5 – BEOORDELING XLD EN BGA

Tijd om de XLD- en BGA-platen te beoordelen op speci- fieke groei. Salmonella vormt op XLD- en BGA-platen roze kolonies; op XLD vaak met een zwart hof. Bij de aanwezigheid van kenmerkende salmonellako- lonies voert de analist een bevestiging uit. Verdachte kolonies worden getest met de MALDI Biotyper, waarmee bacteriën snel en nauwkeurig kunnen worden geïdentificeerd.



DAG 5 of 6 – BEVESTIGING EN SEROTYPERING

De MALDI Biotyper maakt een massaspectrum 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 opge- slagen massaspectra van bekende bacteriesoorten. Op basis van het aantal overeenkomstige pieken wordt een identificatiescore toegekend, waarmee de identiteit van de verdachte bacterie wordt bepaald. Meer over de wer- king van het MALDI-TOF-apparaat leest u in *Pluimvee 63*.

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 of 7 – AFRONDING ONDERZOEK

Afhankelijk van het eerdere proces wordt op dag zes of dag zeven het onderzoek afgerond. De resultaten van het onderzoek worden aan KIPnet gemeld. Bij aangifte- plichtige salmonella's wordt tevens de NVWA ingelicht.