



Laboratoriumonderzoeken op salmonella: waarom uitvoeren?

Veehouders en dierenartsen vragen ons vaak om advies over salmonellatesten. Er zijn zoveel mogelijkheden dat soms door de bomen het bos niet te zien is. Daarom een kort overzicht: welke salmonellaonderzoeken heeft GD en wat kunnen rundveehouders ermee?

Op hoofdlijnen zijn er twee methoden van onderzoek: onderzoek op de salmonellabacterie zelf en onderzoek op antistoffen die het rund na infectie tegen salmonella vormt. Onderzoek op de salmonellabacterie kan al snel na infectie: de uitscheiding van salmonella in mest begint al na 12 tot 24 uur. Antistoffen tegen salmonella worden echter pas vanaf 10 tot 14 dagen na infectie meetbaar.

Onderzoek op de salmonellabacterie

Voor onderzoek op de salmonellabacterie zelf gebruiken wij uiterst gevoelige kweekmethoden: de detectiegrens ligt op minder dan tien salmonellabacteriën per 25 gram mest. Het onderzoek wordt in verschillende combinaties uitgevoerd, afhankelijk van de behoefte aan snelheid (directe kweek is snel), gevoeligheid (kweek met voorophoping en ophoping is gevoelig) en het bepalen van het serotype en de gevoeligheid voor antibiotica (Tabel 1).

Onderzoek op antistoffen

Voor onderzoek van monsters op antistoffen tegen salmonella gebruiken we twee technieken: ELISA's en buisagglutinatietesten (Tabel 2). ELISA's zijn voor de meeste toepassingen voor het aantonen van antistoffen geschikt; buisagglutinatietesten hebben alleen in enkele bijzondere situaties toegevoegde waarde. Belangrijk is dat de ELISA's alleen antistoffen tegen de serogroepen B en D (zie kader 'Salmonella') kunnen detecteren.

Wanneer welk onderzoek?

Voor vier veel voorkomende situaties geven wij hieronder aan welk onderzoek het meest zinvol is:

• Ziekteverschijnselen

Heeft een rund ziekteverschijnselen van salmonella? Dan is mestkweek ('Salmonella kweek klinisch, typering') vaak de eerste keus om de diagnose te stellen. Bij verwerpen kan de diagnose worden gesteld door sectie van de vrucht. Bloedonderzoek ('Salmonella B/D LPS antistoffen-ELISA') kan vanaf ongeveer twee weken na het begin van de verschijnselen worden uitgevoerd. Laat bloedmonsters van verwerpers ook onderzoeken op antistoffen tegen salmonella.

| Productnaam | Directe kweek | Kweek met voorophoping en ophopingsstap | Serotypering | Gevoeligheidsbepaling* |
|---|---------------|---|--------------|------------------------|
| Salmonella kweek klinisch, typering | ● | ● | ● | ● ** |
| Salmonella kweek opsporen drager | | ● | | |
| Salmonella kweek en typering omgevings-monster*** | | ● | ● | |
| Veedrinkwater salmonella-onderzoek | | ● | | |

* Gevoeligheid van de salmonellabacterie voor antibiotica. ** Indien aangevraagd bij inzenden. *** Bijvoorbeeld mestputmonsters.

Tabel 1. Beschikbare testen voor het aantonen van salmonellabacteriën in monsters van rundveebedrijven.

| Productnaam | Monstertype | Detecteert antistoffen tegen | Bijzonderheid |
|--|---|------------------------------|--|
| Salmonella B/D LPS antistoffen ELISA | Individuele melk, tankmelk, bloed (serum) | Serotypes in groep B en D | |
| Salmonella Dublin H antistoffen BUA | Bloed (serum) | Serotype Dublin | Bepaling van titer, daarmee is het mogelijk de concentratie antistoffen te vergelijken in twee gelijktijdig geteste monsters van één rund. |
| Salmonella Typhimurium H antistoffen BUA | Bloed (serum) | Serotype Typhimurium | |

Tabel 2. Beschikbare testen voor het aantonen van antistoffen tegen salmonellabacteriën.

Het onderzoek in beeld



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 gaan ze 16 tot 20 uur in een broedstof bij 37°C.

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. Na het incuberen van de plaat kan op basis van de kleur van het bacteriemateri-

aal en de aanwezigheid van een beweeglijkheidszone worden bepaald of 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 beweeglijkheidszone. 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) incubatietemperatuur van 41,5°C.

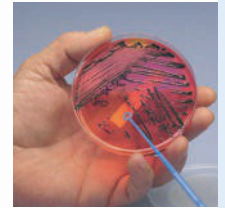
BEOORDELING MSRV

De MSRV-plaat wordt zowel na 24 als na 48 uur incubatie beoordeeld. Als je na twee dagen geen beweeglijkheidszone in de agar 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. De platen worden overnacht geïncubeerd bij 37°C.

BEOORDELING XLD EN BGA
Salmonella vormt op XLD- en BGA-platen roze kolonies; op XLD vaak met een zwart centrum. Bij de aanwezigheid van kenmerkende salmonellakolonies voert de analist een bevestiging uit.

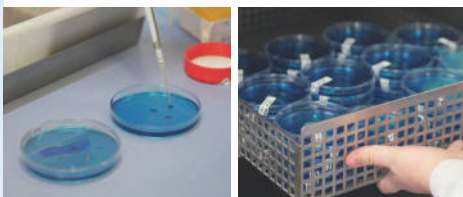


BEVESTIGING SALMONELLA

Verdachte kolonies worden getest met een methode gebaseerd op massaspectrometrie, waarmee bacteriën snel en nauwkeurig kunnen worden geïdentificeerd. Met deze techniek 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.

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.



• Opsporen salmonelladragers

Een klein deel van de besmette runderen blijft drager van de bacterie. Zij blijven de infectie verspreiden. Op langdurig besmette bedrijven draagt het afvoeren van salmonelladragers bij aan het beheersen van de infectie. Voor het opsporen van dragers wordt gebruik gemaakt van periodiek onderzoek op antistoffen ('Salmonella B/D LPS antistoffen-ELISA' in individuele melk of bloedmonsters). Herhaal het onderzoek elke zes maanden. De eerste keer dat antistoffen worden aangetoond is een mestkweek zinvol ('Salmonella kweek opsporen drager').

Salmonella

Salmonellose is een infectieziekte die wordt veroorzaakt door de salmonellabacterie. Het ziektebeeld varieert per bedrijf; koorts, diarree, verwerpen en sterfte komen veel voor bij volwassen runderen. Bij kalveren zijn er vaak longontstekingen, diarree, groeivertraging, gewrichtsontstekingen of sterfte. De ziekte kan makkelijk worden overgedragen op mensen.

De salmonellabacterie wordt ingedeeld in een groot aantal (meer dan 2.500) types, 'serotypes' in het vakjargon. Deze serotypes worden weer samengevoegd tot 'serogroepen'. Bij Nederlandse runderen worden de meeste besmettingen veroorzaakt door serogroep B (waaronder het serotype *Salmonella* Typhimurium) en serogroep D (waaronder het serotype *Salmonella* Dublin).

• Infectie op het bedrijf

Op een snelle manier in beeld brengen of een salmonella-infectie op het bedrijf nog actief wordt verspreid? Combineer dan onderzoek van tankmelk ('Salmonella B/D LPS antistoffen-ELISA'), bloedonderzoek van de vijf jongste kalveren van tenminste 90 dagen, die tenminste 70 dagen op het bedrijf zijn ('Salmonella B/D LPS antistoffen-ELISA') en mestputonderzoek ('Salmonella kweek en typering omgevingsmonster').

• Afwezigheid van een salmonella-infectie

Wilt u laten zien dat uw bedrijf een hoge kans op afwezigheid van een salmonellabesmetting heeft, bijvoorbeeld voor de verkoop van runderen voor het leven? Dan is een status 'Salmonella-Onverdacht' waardevol. Voor het behalen en bewaken van deze status wordt gebruikgemaakt van periodiek onderzoek, van bewaking op de aanvoer van runderen en van bewaking op positieve uitslagen van uitgevoerd onderzoek. Het periodieke onderzoek bestaat op melkveebedrijven uit tankmelkonderzoek ('Salmonella B/D LPS antistoffen-ELISA') en op overige bedrijven uit steekproefbloedonderzoek ('Salmonella B/D LPS antistoffen-ELISA').

Door de salmonellasituatie op het bedrijf te monitoren met een salmonellaprogramma is snel ingrijpen mogelijk.

LEES HIER
MEER INFORMATIE

