

RIJKSINSTITUUT VOOR VOLKSGEZONDHEID EN MILIEU
BILTHOVEN

RIVM rapport 285859 008

**NRL Salmonella ringonderzoek II:
bacteriologische detectie van *Salmonella*
in aanwezigheid van competitieve flora**

N. Voogt, P.H. in 't Veld, N. Nagelkerke
en A.W. van de Giessen

januari 1999

Dit ringonderzoek is uitgevoerd in opdracht en ten laste van de Inspectie Gezondheidsbescherming, Waren en Veterinaire Zaken van het ministerie van Volksgezondheid, Welzijn en Sport en valt onder MAP project 285859 getiteld: Surveillance van zoönoseverwekkers

Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, Postbus 1, 3720 BA Bilthoven
tel 030-2749111; fax 030-2742971

Inspectie Gezondheidsbescherming, Waren en Veterinaire Zaken, Ministerie van Volksgezondheid, Welzijn en Sport, Postbus 16108, 2500 BC, 's-Gravenhage, Nederland; tel 070-3405060; fax 070-3405435

Verzendlijst

- 1-5 Inspectie Gezondheidsbescherming, Waren en Veterinaire Zaken van het ministerie van Volksgezondheid, Welzijn en Sport
- 6 Contactpersoon Inspectie Gezondheidsbescherming, Waren en Veterinaire Zaken
dr. J.H.M. Nieuwenhuijs
- 7 Directeur-Generaal van de Volksgezondheid
- 8 Hoofdinspecteur Gezondheidszorg
- 9 Voorzitter van de Gezondheidsraad
- 10 Productschappen Vee, Vlees en Eieren dr. T. de Boer
- 11-15 Stuurgroep laboratoria Plan van Aanpak PVE
- 16-37 Deelnemers aan het ringonderzoek (verzending via Inspectie W&V)
- 38 Directeur Volksgezondheid RIVM prof. dr. G. Elzinga
- 39 Directeur Sector 2 (volksgezondheidsonderzoek) prof. dr. ir. D. Kromhout
- 40 Hoofd Microbiologisch Laboratorium voor Gezondheidsbescherming (MGB)
dr. ir. A.M. Henken
- 41-44 Auteurs
- 45 Depot van Nederlandse publikaties en Nederlandse bibliografie
- 46 Strategisch Bureau Directie (SBD)/Voorlichting en Public Relations
- 47 Bibliotheek RIVM
- 48 Bureau rapportenregistratie
- 49-65 Bureau rapportenbeheer en verkoop
- 66-75 Reserve exemplaren

Inhoud

	pagina
Verzendlijst	2
Abstract	4
Samenvatting	5
1 Inleiding	6
2 Deelnemende laboratoria	7
3 Materiaal en methoden	8
3.1 Bereiding van de referentiematerialen met <i>S. Typhimurium</i>	8
3.2 Bereiding van monsters met stoorflora	8
3.3 Ringonderzoek	8
3.4 Statistische analyse van de resultaten	9
4 Resultaten	10
4.1 Besmettingsniveau van de referentiematerialen	10
4.2 Analyse van de uitvoering van het ringonderzoek	10
4.3 Testresultaten	11
4.3.1 Capsules getest zonder toevoeging van faeces (n = 10)	11
4.3.2 Capsules getest in combinatie met faeces (n = 40)	12
5 Discussie en conclusies	19
Literatuur	21
Bijlage 1. Protocol	22
2. Testrapport	27
3. Gegevens over de gebruikte media	42

Abstract

In April 1998, a bacteriological collaborative study was organized by the Dutch National Reference Laboratory (NRL) for *Salmonella* among 23 laboratories participating in the Dutch national programme for control of *Salmonella* in the poultry sector. The main objective of this study was to test the capacity of various laboratories in the Netherlands to detect *Salmonella* in the presence of competitive micro-organisms.

Reference capsules containing sublethally injured *Salmonella* Typhimurium had to be tested for the presence of *Salmonella* with and without the addition of chicken faeces. The laboratories applied the predescribed method of the Product boards for livestock, meat and eggs and optionally their own methods to detect *Salmonella* in chicken faeces. Fifteen of the 23 participating laboratories isolated *Salmonella* from all 28 positive capsules tested in combination with faeces. The use of semi-solid media, especially MSRV and DIASALM, yielded significantly more positive isolations compared to Rappaport-Vassiliadis as selective enrichment medium.

Samenvatting

In april 1998 werd in opdracht van de Inspectie Gezondheidsbescherming, Waren en Veterinaire Zaken een tweede bacteriologisch ringonderzoek voor de detectie van *Salmonella* in aanwezigheid van stooflora georganiseerd door het Nationaal Referentie Laboratorium (NRL) voor *Salmonella* (RIVM, Bilthoven). Aan het ringonderzoek werd deelgenomen door 23 laboratoria die deelnemen aan het Plan van Aanpak ter bestrijding van *Salmonella* (en *Campylobacter*) in de pluimveevleessector van de Productschappen Vee, Vlees en Eieren (PVE).

Het belangrijkste doel van dit ringonderzoek was te testen of de deelnemende laboratoria in staat zijn om *Salmonella* te detecteren in aanwezigheid van stooflora. Daarvoor werden referentiematerialen met *Salmonella* gebruikt die dienden te worden onderzocht met en zonder toevoeging van kippenfaeces. De deelnemende laboratoria voerden het ringonderzoek uit volgens het voorschrift van PVE en in bepaalde gevallen met andere gangbare methodes voor de detectie van *Salmonella* in pluimveemonsters.

Vijftig individueel genummerde capsules werden door de laboratoria onderzocht. Veertig capsules (vier blanco's, 19 met ± 100 kolonie vormende eenheden (kve) *Salmonella* Typhimurium (STM) en 17 met ± 1000 kve STM) werden onderzocht in combinatie met één gram kippenfaeces. Aan 8 van de 19 capsules met 100 kve STM moest een portie faeces dat een antibioticum bevatte worden toegevoegd. Tien capsules (vier met ± 5 kve *S. Panama*, twee met ± 10 kve STM en vier met ± 100 kve STM) werden zonder faeces onderzocht.

Vijftien van de 23 laboratoria isoleerden *Salmonella* uit de 28 capsules getest in combinatie met kippenfaeces zonder toevoeging van antibioticum. Bij de overige acht deelnemers varieerde het aantal positieve monsters van één tot tien voor de 11 monsters met 100 kve STM en van 6 tot 16 voor de 17 monsters met 1000 kve STM. Eén laboratorium isoleerde *Salmonella* uit twee blanco capsules en uit drie capsules waaraan faeces met een antibioticum was toegevoegd. De gebruikte semi-solid media, MSR/V en DIASALM, scoorden significant beter in vergelijking met RV.

1 Inleiding

Salmonella is in Nederland een belangrijke oorzaak van gastro-enteritis bij de mens. Op basis van door het RIVM uitgevoerd populatieonderzoek wordt geschat dat zich jaarlijks in Nederland ca. 100.000 gevallen van *Salmonella*-infectie voordoen (6). Uit diverse onderzoeken is gebleken dat pluimveevlees en eieren een belangrijke rol spelen in de epidemiologie van *Salmonella* bij de mens. Onderzoek van de Inspectie Gezondheidsbescherming heeft uitgewezen dat in Nederland in 1997 ca. 30% van de rauwe kipproducten in de detailhandel besmet was met *Salmonella* (van der Zee, Inspectie W&V Zutphen, pers. mededeling). Het wordt algemeen erkend dat een vermindering van de *Salmonella*-besmetting van pluimveevlees primair dient te worden gerealiseerd middels een reductie van het aantal *Salmonella*-positieve pluimveekoppels. In verband met deze problematiek is in 1997 door de Productschappen Vee, Vlees en Eieren (PVE) een plan van aanpak in de pluimveevleessector geïmplementeerd, welke is gericht op het terugdringen van het aantal *Salmonella*- (en *Campylobacter*-) positieve koppels vleeskuikens. Deze aanpak is voor een belangrijk deel gebaseerd op monitoring van *Salmonella* (en *Campylobacter*) bij pluimveekoppels in de productieketen middels bacteriologisch onderzoek van o.a. mest- en blindedarmmonsters. Het bacteriologisch onderzoek wordt daarbij uitgevoerd door laboratoria die daarvoor een voorlopige erkenning van het PVE hebben verkregen, mede op advies van de Inspectie W&V. De Inspectie W&V heeft aan het RIVM de opdracht gegeven om in 1998 tweemaal een ringonderzoek te organiseren met de in het Plan van Aanpak participerende laboratoria. Deze ringonderzoeken hebben ten doel om de bekwaamheid van de betrokken laboratoria te testen voor bacteriologische detectie van *Salmonella* in kippenfaeces. Dit rapport beschrijft het eerste ringonderzoek van 1998 (ringonderzoek II), waaraan door 23 laboratoria werd deelgenomen. Er werd gebruik gemaakt van referentiematerialen met verschillende besmettingsniveau's van *Salmonella* in combinatie met kippenfaeces als stoorflora.

2 Deelnemende laboratoria

Boxmeer	Maasweide laboratory services
Breda	BCO Analytical Services BV
Den Bosch	Biochem Food BV
Deventer	Gezondheidsdienst voor Dieren
Diepenbeek (België)	Dr. L. Willems-instituut
Ede	Conex laboratorium
Groessen/Duiven	BACHEVO
Harderwijk	Diergeneeskundig Onderzoekcentrum NW-Veluwe
Haulerwijk	Frisia
Kornhorn	Storteboom bv
Leek	Pluimveepraktijk Noord-Oost
Leeuwarden	Pro Analyse Food Control BV
Lelystad	ID-DLO
Putten	Lab. Jansen Pluimveeslachterijen
Ruurlo	Dierenartsenpraktijk 'De Achterhoek'
Someren	Pluimveepraktijk Zuid-Nederland
Someren	Veterinair Centrum Someren
Utrecht	Laboratorium Pre-mervo
Veghel	Coöperatief Centraal Laboratorium
Vosselaar (België)	Lavetan
Weert	Laboratorium Pro Health B.V.
Wezep	Plukon Poultry afd. R en D
Wijhe	KBBL Wijhe B.V.

3 Materiaal en methoden

3.1 Bereiding van de referentiematerialen met *S. Typhimurium*

Er zijn drie batches *Salmonella* Typhimurium (STM) gebruikt met een besmettingsniveau van respectievelijk 10, 100 en 1000 kolonie vormende eenheden (kve) per capsule. De bereiding van de referentiematerialen (RM) was gelijk aan die van het eerste bacteriologisch ringonderzoek dat in mei 1997 door het Nationaal Referentie Laboratorium (NRL) voor *Salmonella* werd georganiseerd (5). De batches met een besmettingsniveau van ongeveer 10 en 100 kve STM per capsule zijn bereid uit een met STM hoog besmet melkpoeder (hetgeen opgeslagen lag bij -20 °C). Voor de capsules met ± 1000 kve STM werd gebruik gemaakt van het poeder gemengd voor bacteriologisch ringonderzoek I (5). Vijftig capsules met ± 10 kve STM en 50 met ± 100 kve STM werden geteld om het aantal *Salmonella* bacteriën per capsule te bepalen. De telling werd uitgevoerd zoals eerder beschreven in rapport 285859 003 (5). Er zijn 360 capsules met ± 10 kve STM, 840 capsules met ± 100 kve STM en 360 capsules met ± 1000 kve STM gevuld met 0,34 g gemengd poeder volgens RIVM SOP nr. MGB/M103 (2) en tot gebruik in het ringonderzoek bewaard bij -20 °C.

3.2 Bereiding van monsters met stoorflora

De bereiding van monsters met stoorflora vond plaats zoals eerder beschreven door N. Voogt e.a (4). Ook in dit ringonderzoek is gebruik gemaakt van faeces afkomstig van legkippen. Tevens is gebruik gemaakt van faecesmonsters waaraan een antibioticum is toegevoegd dat *Salmonella* bacteriën doodt. De ontwikkeling van deze monsters is beschreven door M. Raes e.a. (1).

3.3 Ringonderzoek

Drie weken voor de start van het ringonderzoek werden een protocol en een testrapport (zie bijlagen 1-2) aan de deelnemers verzonden. De RM (in totaal 50 individueel genummerde capsules) en vijf porties bevroren faeces werden in de week voorafgaande aan het ringonderzoek gekoeld naar de 23 deelnemers verstuurd. De inhoud van de 50 capsules en het feit dat één van de porties faeces (portie 4) een antibioticum bevatte was niet bekend bij de

deelnemers. Na aankomst op het laboratorium moesten, zoals beschreven in het protocol, de capsules en de faeces tot het begin van het ringonderzoek bewaard worden bij -20 °C.

Veertig capsules dienden te worden getest in combinatie met kippenfaeces. Na voorincubatie van de capsules moest één gram kippenfaeces worden toegevoegd. Negentien capsules bevatten ongeveer 100 kve STM per capsule, 17 ongeveer 1000 kve STM en vier waren blanco capsules. Aan acht van de 19 capsules met 100 kve STM diende faeces met daarin een antibioticum te worden toegevoegd. De overige tien capsules (vier met 5 kve *Salmonella* Panama, twee met ± 10 kve STM en vier met ± 100 kve STM per capsule) werden zonder toevoeging van faeces getest. Daarnaast dienden twee controles te worden ingezet. Dit betrof één procedure controle, waarbij geen capsule en geen faeces aan de media moest worden toegevoegd en één negatieve controle, waarbij alleen één gram faeces moest worden toegevoegd. De deelnemers volgden de procedure zoals die beschreven stond in het protocol en maakten daarbij gebruik van de methode en media die op het laboratorium normaal toegepast worden voor de detectie van *Salmonella* in pluimveemonsters uit de praktijk. De benodigde onderzoeksgegevens en de eindresultaten werden in het testrapport aan het NRL gerapporteerd.

3.4 Statistische analyse van de resultaten

Voor alle testen werd een onbetrouwbaarheidsdrempel (α) van 5% gebruikt.

De betrouwbaarheidsintervallen voor de fractie positieve monsters werden berekend met behulp van arcsin $\sqrt{}$ transformatie. De variantie stabiliserende arcsin $\sqrt{}$ transformatie zorgt ervoor dat de variantie voor alle uitkomsten (ongeveer) hetzelfde is.

Teneinde te onderzoeken of er binnen een laboratorium significante verschillen waren in de resultaten van de verschillende media werd de McNemar's test met behulp van het programma SAS (PROC FREQ) (3) uitgevoerd. Dezelfde test, geaggregeerd over de deelnemende laboratoria, werd gebruikt om de verschillen in resultaten tussen de meest toegepaste selectieve ophopingsmedia te berekenen.

4 Resultaten

4.1 Besmettingsniveau van de referentiematerialen

Het besmettingsniveau van de batches RM met ± 10 en ± 100 kve STM is één keer bepaald. Het gemiddeld aantal kve in de RM met een besmettingsniveau van ongeveer 10 kve was 10,74. De waarde voor de homogeniteit van deze batch, uitgedrukt als $T_2/(I-1)$, was 0,90. In dit geval is er sprake van een bijna ideale homogene verdeling ($T_2/(I-1) = 1$). Het gemiddeld aantal kve in de batch met ongeveer 100 kve was 94 per capsule. De corresponderende waarde voor de homogeniteit was 1,47. Hier is sprake van overdispersie tussen de capsules ($T_2/(I-1) > 1$). De batch is wel gebruikt in het ringonderzoek, omdat de kans op het vinden van een capsule zonder *Salmonella* verwaarloosbaar klein is door het hoge besmettingsniveau van de capsules. Het besmettingsniveau en de homogeniteitswaarde van de batch met ± 1000 kve STM is eerder beschreven door N. Voogt e.a. (5).

4.2 Analyse van de uitvoering van het ringonderzoek

Voorophoping

Alle laboratoria gebruikten gebufferd pepton water (BPW) als voorophopingsmedium. In Tabel 10 (bijlage 3) zijn de door de laboratoria gebruikte fabrikanten en artikelnummers weergegeven. Voordat één gram faeces aan de BPW werd toegevoegd, moesten de capsules een half uur bij 37 °C worden geïncubeerd. Eenentwintig laboratoria incubeerden tussen 30 en 35 minuten. Laboratoria 5 en 11 losten de capsules 55 minuten respectievelijk 2 uur op voordat de faeces werd toegevoegd. De start- en eindtijden van de incubatie van het voorophopingsmedium zijn ook in Tabel 10 vermeld. De incubatieperiode varieerde tussen 17 uur (labcode 12) en 23 uur 49 minuten (labcode 10). Eén laboratorium (labcode 7) rapporteerde de eindtijd niet.

Selectieve ophoping

De door de laboratoria gebruikte selectieve ophopingsmedia met de bijbehorende fabrikanten en incubatietijden zijn vermeld in Tabel 11 (bijlage 3). De frequentie van gebruik van de, in totaal, vijf verschillende media is weergegeven in Tabel 1. De incubatietijden varieerden tussen 20 en 25 uur, met uitzondering van laboratorium 2 (28 uur met RV als selectief ophopingsmedium). Zeven van de 23 laboratoria incubeerden het selectieve ophopingsmedium voor een tweede periode, waarbij de totale incubatietijd varieerde tussen 45 en 49 uur.

Isolatie

De door de deelnemers gebruikte isolatiemedia, de fabrikanten en de incubatietijden staan in Tabel 12 (bijlage 3). De meeste deelnemers incubeerden de isolatiemedia tussen 19 en 25 uur. Eén laboratorium (labcode 2) incubeerde de media korter (15 uur 35 min.) en één laboratorium (labcode 10) langer (28 uur).

Tabel 1 *Frequentie van gebruik van diverse selectieve ophopingsmedia door de deelnemende laboratoria*

selectief ophopingsmedium	frequentie van gebruik
RV	20
DIASALM	15
MSRV	11
RVS	2
SC	2

4.3 Testresultaten

4.3.1 Capsules getest zonder toevoeging van faeces (n = 10)

De negatieve controle en procedure controle waren bij alle deelnemende laboratoria negatief. De resultaten van de tien zonder faeces geteste capsules zijn weergegeven in Tabel 2. Alle laboratoria isoleerden *Salmonella* uit de zes met (10 en 100 kve) STM besmette capsules. Uit de vier capsules met (5 kve) *S. Panama* werd door twee laboratoria (labcode 16 en 18) respectievelijk één en twee keer geen *Salmonella* geïsoleerd.

Van de 22 laboratoria die meer dan één selectief ophopingsmedium gebruikten, vonden vier laboratoria (labcodes 2, 3, 6 en 20) verschillende resultaten met de media. Met uitzondering van laboratorium 3 vonden deze laboratoria een verschil bij het onderzoek van de vier capsules met *S. Panama*. In twee gevallen werd *S. Panama* geïsoleerd met RV als selectief medium, waarbij één keer DIASALM en één keer MSRV negatief was, terwijl in het derde geval MSRV positief en RV negatief was. Laboratorium 3 isoleerde *Salmonella* uit één capsule 10 kve STM en uit één capsule 100 kve STM met MSRV als isolatiemedium, terwijl RV negatief was.

4.3.2 Capsules getest in combinatie met faeces (n = 40)

In totaal werden door de laboratoria 40 capsules getest in combinatie met faeces. In Tabel 3 is het aantal monsters waaruit door de deelnemende laboratoria *Salmonella* is geïsoleerd weergegeven. Er is daarbij onderscheid gemaakt tussen de capsules toegevoegd aan faeces zonder een antibioticum (totaal 32 capsules) en faeces met een antibioticum (8 capsules).

Uit de acht capsules waaraan faeces met een antibioticum was toegevoegd en die in principe een negatief resultaat behoorden op te leveren, werd door twee laboratoria (labcode 6 en 14) respectievelijk drie en één maal *Salmonella* geïsoleerd. Tevens isoleerden laboratorium 6 en 9 *Salmonella* uit twee respectievelijk één van de vier blanco capsules. De overige laboratoria isoleerden geen *Salmonella* uit de blanco capsules en/of de capsules waaraan faeces met een antibioticum was toegevoegd.

Bij de capsules die werden toegevoegd aan de faeces zonder een antibioticum is onderscheid gemaakt tussen capsules met 100 kve STM (totaal 11) en met 1000 kve STM (totaal 17). Van de 23 laboratoria isoleerden er 15 *Salmonella* uit alle 11 monsters met 100 kve STM, terwijl de resterende acht deelnemers tussen de één en 10 monster(s) negatief vond(en) voor *Salmonella*. In Tabel 4 staat voor deze laatste categorie laboratoria het percentage positieve monsters aangegeven met het bijbehorende 95% betrouwbaarheidsinterval. Negentien laboratoria isoleerden *Salmonella* uit alle 17 monsters met 1000 kve STM. Het percentage positieve monsters met het bijbehorende 95% betrouwbaarheidsinterval voor de resterende zes laboratoria is weergegeven in Tabel 5.

In Tabel 6 en 7 zijn de resultaten per selectief ophopingsmedium te zien voor capsules met 100 kve STM respectievelijk 1000 kve STM. Laboratorium 22 gebruikte alleen MSR/V als selectief ophopingsmedium. Laboratorium 13 gebruikte drie selectieve ophopingsmedia (RV, DIASALM en SC) en vond bij de capsules met 1000 kve STM geen significante verschillen tussen de media, terwijl bij de capsules met 100 kve STM SC significant slechter ($p < 0,05$) scoorde in vergelijking met RV en DIASALM. Laboratorium 4 testte in totaal vijf ophopingsmedia (RV, DIASALM, SC, MSR/V en RVS). SC scoorde vergeleken met de overige media bij beide besmettingsniveaus significant slechter ($p < 0,05$), terwijl bij de capsules met 100 kve STM significant slechtere ($p < 0,05$) resultaten werden behaald met het gebruik van RV en MSR/V (vergeleken met DIASALM en RVS). De overige 20 laboratoria gebruikten twee ophopingsmedia. Negen laboratoria vonden geen significante verschillen tussen de resultaten verkregen met één van beide media. Bij laboratoria 6, 14 en 21 scoorde MSR/V, zowel met STM 100 als met STM 1000, beter in vergelijking met RV. Laboratorium 2 isoleerde bij beide niveaus met DIASALM significant meer *Salmonella* vergeleken met RV. Drie laboratoria vonden alleen significant betere resultaten bij capsules met 100 kve

STM (2x met gebruik van DIASALM en 1x met gebruik van RV als selectief ophopingsmedium), terwijl 4 laboratoria significant meer *Salmonella* isoleerden uit capsules met 1000 kve STM (3x met RV en 1x met DIASALM).

Zeventien van de 20 laboratoria gebruikten naast RV een semi-solid medium; in acht gevallen MSR/V en tien keer DIASALM. Zowel MSR/V als DIASALM scoorden significant beter ($p < 0,05$) vergeleken met RV.

Op drie laboratoria na (labcode 5, 7 en 23) gebruikten alle laboratoria BGA als selectief isolatiemedium. Laboratorium 5 en 23 streken uit op een BPLS plaat, terwijl laboratorium 7 XLD als isolatiemedium gebruikte.

Tabel 2 *Het aantal capsules waaruit door de deelnemende laboratoria Salmonella werd geïsoleerd*

labcode	capsules met 5 kve <i>S. Panama</i> (n = 4)	capsules met 10 kve <i>S. Typhimurium</i> (n = 2)	capsules met 100 kve <i>S. Typhimurium</i> (n = 4)
1	4	2	4
2	4	2	4
3	4	2	4
4	4	2	4
5	4	2	4
6	4	2	4
7	4	2	4
8	4	2	4
9	4	2	4
10	4	2	4
11	4	2	4
12	4	2	4
13	4	2	4
14	4	2	4
15	4	2	4
16	3	2	4
17	4	2	4
18	2	2	4
19	4	2	4
20	4	2	4
21	4	2	4
22	4	2	4
23	4	2	4

Tabel 3 *Het aantal monsters waaruit door de deelnemende laboratoria Salmonella werd geïsoleerd*

labcode	faeces zonder een antibioticum			faeces met een antibioticum
	aantal positieve blanco's (n = 4)	aantal positieve monsters met 100 kve STM (n = 11)	aantal positieve monsters met 1000 kve STM (n = 17)	aantal positieve monsters met 100 kve STM (n = 8)
1	0	11	16 ¹	0
2	0	10	16	0
3	0	9	15	0
4	0	11	17	0
5	0	10	17	0
6	2	11	17	3
7	0	10	13	0
8	0	11	17	0
9	1	11	17	0
10	0	4	10	0
11	0	11	17	0
12	0	11	17	0
13	0	11	17	0
14	0	11	17	1
15	0	11	17	0
16	0	11	17	0
17	0	11	17	0
18	0	8	14	0
19	0	11	17	0
20	0	8	17	0
21	0	11	17	0
22	0	11	17	0
23	0	1	6	0

¹ = één van de 17 capsules ontbrak

Tabel 4 *Aantal en percentage van de monsters met 100 kve STM dat positief werd bevonden*

labcode	gevonden aantal positieve monsters (n = 11)	% positief	95% betrouwbaarheidsinterval
2	10	90,9	67,4 - 99,9
3	9	81,8	54,3 - 98,0
5	10	90,9	67,4 - 99,9
7	10	90,9	67,4 - 99,9
10	4	36,4	11,5 - 66,0
18	8	72,7	43,5 - 94,0
20	8	72,7	43,5 - 94,0
23	1	9,1	0 - 32,6

Tabel 5 *Aantal en percentage van de monsters met 1000 kve STM dat positief werd bevonden*

labcode	gevonden aantal positieve monsters (n = 17)	% positief	95% betrouwbaarheidsinterval
2	16	94,1	78,0 - 99,9
3	15	88,2	68,8 - 98,8
7	13	76,5	53,6 - 93,2
10	10	58,8	34,8 - 80,8
18	14	82,4	60,8 - 96,4
23	6	35,3	14,7 - 59,3

Tabel 6 *Aantal Salmonella positieve isolaties per selectief ophopingsmedium uit monsters met 100 kve STM (n = 11)*

lab	RV			DIAS			MSRV	RVS		SC	
	BGA	XLD	BPLS	BGA	XLD	BPLS	BGA	BGA	XLD	BGA	XLD
1	8						11				
2	2			10							
3	7						3				
4	6			11			6	10		2	
5			8			9					
6	0						10				
7					10				5		
8	11			11							
9	11	10		11							
10				4			1				
11	9						11				
12	10			11							
13	8	9		11						7	8
14	6						11				
15	10			10							
16	10			11							
17	11			11							
18	8						5				
19	3			11							
20	8						1				
21	0						11				
22							11				
23			1			0					

Tabel 7 *Aantal Salmonella positieve isolaties per selectief ophopingsmedium uit monsters met 1000 kve STM (n = 17)*

lab	RV			DIAS			MSRV	RVS		SC	
	BGA	XLD	BPLS	BGA	XLD	BPLS	BGA	BGA	XLD	BGA	XLD
1	15						16				
2	6			16							
3	14						7				
4	17			17			16	17		9	
5			17			17					
6	2						17				
7					12				11		
8	17			17							
9	17	16		17							
10				9			3				
11	17						17				
12	15			17							
13	17	17		17						15	13
14	13						17				
15	17			17							
16	17			17							
17	15			17							
18	14						7				
19	14			17							
20	15						14				
21	4						17				
22							17				
23			5			1					

5 Discussie en conclusies

In dit ringonderzoek diende *Salmonella* te worden geïsoleerd uit referentiematerialen met verschillende besmettingsniveaus in aan- en afwezigheid van competitieve micro-organismen in de vorm van kippenfaeces. Aan één van de vijf porties kippenfaeces was een antibioticum toegevoegd dat *Salmonella* doodt. De resultaten van alle laboratoria werden gebruikt in de statistische analyse.

Door alle deelnemende laboratoria werd *Salmonella* geïsoleerd uit de capsules met STM, waaraan geen faeces was toegevoegd uit zowel die met 10 als 100 kve. Eenentwintig van de 23 laboratoria isoleerden *Salmonella* uit alle 4 capsules met *S. Panama* en 2 laboratoria isoleerden *Salmonella* uit respectievelijk 2 en 3 van de 4 capsules. Het berekende percentage negatieve capsules van de gebruikte batch *S. Panama* was 0,2 % met een 95 % betrouwbaarheidsinterval tussen 0,1 - 0,5 %. De negatieve bevindingen van deze laboratoria kunnen een aanwijzing zijn dat zij moeite hebben met het detecteren van lage aantallen *Salmonella*. Door twee laboratoria werd *Salmonella* geïsoleerd uit monsters met blanco capsules. Dit duidt op kruisbesmetting tussen monsters of verwisseling van monsters. Daarnaast isoleerde één van deze laboratoria drie keer *Salmonella* uit capsules waaraan faeces met een antibioticum was toegevoegd. Dit gebeurde bij een ander laboratorium één keer.

Zes van de 23 deelnemende laboratoria isoleerden geen *Salmonella* uit een aantal monsters met 100 en 1000 kve STM waaraan faeces zonder een antibioticum was toegevoegd. Twee laboratoria vonden alleen negatieve monsters bij de capsules met 100 kve STM. Het aantal positieve bevindingen varieerde voor de met 100 kve STM besmette monsters ($n = 11$) tussen één (95% betrouwbaarheid voor % positieve monsters tussen 0 en 32,6) en 10 (95% betrouwbaarheid tussen 67,4 en 99,9%). Bij de capsules met 1000 kve STM ($n = 17$) varieerde het aantal positieve bevindingen tussen zes (95% betrouwbaarheid tussen 14,7 en 59,3%) en 16 (95% betrouwbaarheid tussen 78,0 en 99,9%). Dit laatste betekent dat met 95% betrouwbaarheid geschat kan worden dat in dit laboratorium bij onderzoek op vergelijkbaar monstermateriaal met een vergelijkbaar besmettingsniveau met gebruik van dezelfde methode er van de werkelijk positieve monsters tussen de 78 en 99 % positief gevonden zullen worden.

In het kader van het Plan van Aanpak van het PVE is een uniforme methode voor de detectie van *Salmonella* in pluimveefaeces afgesproken. Er wordt daarbij gebruik gemaakt van RV en een tweede selectief ophopingsmedium naar keuze; namelijk MSR of DIASALM. De resultaten met deze semi-solid media waren significant beter vergeleken met de resultaten bij

gebruik van RV. Dit in tegenstelling tot de resultaten uit ringonderzoek I (5), waarin RV significant beter scoorde. De aanvankelijke onbekendheid van de laboratoria met het gebruik van het DIASALM medium bij het eerste ringonderzoek kan hier een oorzaak van zijn. Uit eerdere bacteriologische ringonderzoeken (1,4,5) is al gebleken dat selectieve ophopingsmedia verschillen in geschiktheid voor de isolatie van *Salmonella* in aanwezigheid van stoorflora. Zowel bij het RIVM als bij de GD te Deventer vindt momenteel onderzoek plaats naar methoden voor detectie van *Salmonella* in pluimveefaeces, hetgeen uiteindelijk dient te leiden tot selectie van de meest geschikte methode.

Een bacteriologisch ringonderzoek zoals in dit rapport gepresenteerd is, zal door het RIVM in opdracht van de Inspectie W & V 2x per jaar worden georganiseerd. De criteria waaraan de resultaten moeten voldoen en de aan het resultaat gekoppelde consequenties worden door het PVE vastgesteld. Indien een laboratorium voldoet aan de door de PVE gehanteerde criteria zal dit laboratoria bij volgende ringonderzoeken 15 capsules dienen te onderzoeken hetgeen trendanalyse mogelijk maakt. Is dit niet het geval dan dienen 50 capsules te worden onderzocht hetgeen statistische analyse mogelijk maakt.

Literatuur

1. Raes M, Voogt N, Veld PH in 't, Nagelkerke N, Henken AM. Bacteriological detection of *Salmonella* in the presence of competitive micro-organisms: bacteriological collaborative study III amongst the National Reference Laboratories for *Salmonella*. Bilthoven: National Institute of Public Health and the Environment; 1998 September. Report 256500 001.
2. RIVM SOP nr. MGB/M103. Handmatig vullen van capsules m.b.v. een capsuleer apparaat. Revisie nr. 2.
3. The SAS system for Windows (statistic program) release 6.1.1.; Cary, NC 27513 USA
4. Voogt N, Veld PH in 't, Nagelkerke N, Henken AM. Bacteriological detection of *Salmonella* in the presence of competitieve micro-organisms: a collaborative study amongst the National Reference Laboratories for *Salmonella*. Bilthoven: National Institute of Public Health and the Environment; 1997 September. Report 284500 007.
5. Voogt N, Veld PH in 't, Nagelkerke N, Giessen AW van de. NRL *Salmonella* ringonderzoek I: bacteriologische detectie van *Salmonella* in aanwezigheid van competitieve flora. Bilthoven: Rijksinstituut voor Volksgezondheid en milieu; 1998 januari. Rapport 285859 003.
6. Wit MAS de, Hoogenboom-Verdegaal AMM, Goosen ESM, Sprenger MJW, Borgdorff MW. Een bevolkingsonderzoek in vier regio's in Nederland naar de incidentie en ziektelast van gastro-enteritis en van *Campylobacter*- en *Salmonella*-infectie. Bilthoven: Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, 1996. Rapport 149101014.

Bijlage 1 (Protocol)

RINGONDERZOEK II BACTERIOLOGISCHE DETECTIE VAN *SALMONELLA* IN KIPPENFAECES GEORGANISEERD DOOR HET NATIONAAL REFERENTIE LABORATORIUM (NRL) VOOR *SALMONELLA*

Opzet van het ringonderzoek

Bacteriologisch ringonderzoek II wordt uitgevoerd door het Nationaal Referentie Laboratorium (NRL) voor *Salmonella* in opdracht van de Veterinaire Hoofdinspectie (VHI) van de Volksgezondheid en houdt verband met de procedure voor erkenning van laboratoria in het kader van het Plan van Aanpak *Salmonella* in de pluimveevleessector van de Productschappen Vee, Vlees en Eieren (PVE). In het ringonderzoek wordt gewerkt met referentiecapsules welke al dan niet in combinatie met kippenfaeces onderzocht dienen te worden op *Salmonella*. Daarbij dient gebruik gemaakt te worden van de methode welke het laboratorium zelf gebruikt voor onderzoek van pluimveemestmonsters uit de praktijk in het kader van het Plan van Aanpak. In totaal dienen 50 monsters, exclusief 2 controles, te worden onderzocht. Daartoe ontvangt iedere deelnemer een pakket met daarin:

- 50 genummerde potjes die elk één capsule bevatten;
- 5 porties à 10 gram ingevroren kippenfaeces.

Een gedetailleerde procedure voor de uitvoering van het onderzoek is beschreven in Bijlage 1 van dit protocol.

Testrapport

De resultaten van het onderzoek dienen te worden vermeld in het testrapport. Na afloop van het onderzoek wordt dit testrapport volledig ingevuld naar het NRL *Salmonella* opgestuurd. Bij het NRL zullen de resultaten (statistisch) worden verwerkt.

Tevens dienen in het testrapport alle gegevens te worden opgenomen over de media die gebruikt zijn tijdens de uitvoering van het ringonderzoek. Daarnaast moet alle informatie worden vermeld die invloed kan hebben op het eindresultaat. Afwijkingen van het protocol en andere gebeurtenissen moeten vermeld worden. In het testrapport dienen de namen vermeld te worden van de personen die het ringonderzoek hebben uitgevoerd en van degene die er verantwoordelijk voor is.

Rapportage

Rapportage van de resultaten van het ringonderzoek geschiedt aan de opdrachtgever. Daarnaast zal ieder laboratorium een uitslag ontvangen van zijn eigen resultaten.

Tijdsplanning ringonderzoek

De uitvoering van het ringonderzoek vindt plaats in week 17. De start van het onderzoek van de capsules is op maandag 20 april 1998.

- 30 maart - 3 april '98 Verzending van protocol en testrapport naar de deelnemers.
- 14 april 1998 Verzending van de materialen naar de deelnemers.
Het pakket wordt via EMS of DHL verstuurd en wordt normaliter op 15 april voor 11.00 uur afgeleverd. Koelelementen zorgen ervoor dat de temperatuur tijdens het transport laag blijft. Na aankomst in het laboratorium moeten **alle materialen direct bij -20 °C geplaatst worden**.
Controleer of de koelelementen nog bevroren zijn en noteer dat in het testrapport (pagina 2).
Als het pakket op woensdag 15 april 1998 voor 14.00 uur niet op het laboratorium is aangekomen, neem dan onmiddellijk contact op met het NRL *Salmonella* (contactpersoon Nelly Voogt; telefoonnummer: 030-2743927 b.g.g. 030-2742082 of 2742661)
- 20 - 24 april 1998 Uitvoering van het ringonderzoek volgens de procedure zoals beschreven in Bijlage 1.
- 6 - 8 mei 1998 Faxen van het volledig ingevulde testrapport naar het NRL *Salmonella*. Het originele testrapport en een kopie van het gebruikte protocol voor de detectie van *Salmonella* worden per post teruggestuurd naar het NRL.
- 18 mei 1998 Controle door de deelnemers van de door het NRL *Salmonella* ingevoerde gegevens.

Als er vragen of opmerkingen zijn over het ringonderzoek, dan kunt u contact opnemen met:

Nelly Voogt (onderzoeksassistent)

RIVM (postbak 63)

Postbus 1

3720 BA Bilthoven

tel.nr. : 030-2743927 of 2742082

fax : 030-2744434

vervolg Bijlage 1

Procedure voor bacteriologisch ringonderzoek II

Voor het ringonderzoek dient gebruik gemaakt te worden van de methode die op het laboratorium wordt toegepast voor de detectie van *Salmonella* in pluimveemestmonsters in het kader van het Plan van Aanpak. Vermeld in het testrapport alle gevraagde gegevens over de media die gebruikt worden tijdens het onderzoek.

Haal de ingevroren faeces maandagochtend 20 april uit de vriezer en plaats deze bij 5 °C. Zet de faeces een uur voor gebruik bij kamertemperatuur.

1. Voorophoping

Haal de genummerde potjes met de capsules één uur voordat ze worden toegevoegd aan het voorophopingsmedium uit de vriezer, zodat ze op kamertemperatuur kunnen komen. Als het voorophopingsmedium ook bij een lagere temperatuur bewaard wordt moet dit eveneens bij kamertemperatuur geplaatst worden. Vermeld in het testrapport de gevraagde gegevens over het voorophopingsmedium.

Nummer 52 potten met voorophopingsmedia van 1 tot 50 voor de capsules en 2 voor controles. De eerste controle is een procedure controle (C1), waaraan geen capsule en geen faeces wordt toegevoegd en de tweede is een negatieve controle (C2) waaraan alleen 1 gr. faeces wordt toegevoegd. Deze 2 controles worden verder hetzelfde behandeld als de 50 monsters. Nadat de media en capsules op kamertemperatuur zijn gebracht wordt een capsule toegevoegd aan het voorophopingsmedium met hetzelfde nummer. De capsule mag niet geopend worden en ook mag het voorophopingsmedium **niet** geschud worden om de capsule sneller op te laten lossen. Vervolgens worden de media gedurende 30 minuten bebroed bij de incubatietemperatuur die volgens uw methode gebruikt wordt. Vermeld de temperatuur van de stoof en de begin en eindtijd van de incubatieperiode in het testrapport. Voeg na 30 minuten 1 ± 0.1 gr. ontdooide faeces aan de media toe volgens onderstaand schema:

1 gr. uit portie 1 toevoegen aan monsters 1-8;

1 gr. uit portie 2 toevoegen aan monsters 9-16 en aan C2;

1 gr. uit portie 3 toevoegen aan monsters 17-24;

1 gr. uit portie 4 toevoegen aan monsters 25-32;

1 gr. uit portie 5 toevoegen aan monsters 33-40;

geen faeces toevoegen aan monsters 41-50.

Incubeer volgens de methode van uw laboratorium. Vermeld in het testrapport de incubatietemperatuur en de begin- en eindtijd van de incubatieperiode.

2. Selectieve ophoping

Vermeld in het testrapport de gevraagde gegevens van de selectieve ophopingsmedia. Nummer 52 buizen/flessen van elk selectief ophopingsmedium van 1 tot 50 voor de monsters en C1/C2 voor de controles.

Beënt en incubeer de media vanuit het corresponderende voorophopingsmedium volgens de methode van uw laboratorium. Vermeld de temperatuur, de start- en eindtijd van de incubatieperiode in het testrapport.

3. Isolatie

Vermeld in het testrapport de gevraagde gegevens over de gebruikte isolatiemedia. Nummer 52 petrischalen van elk routinematig gebruikt isolatiemedium van 1 tot 50 voor de monsters en C1/C2 voor de controles.

Beënt en incubeer de media volgens de methode van het laboratorium. Vermeld in het testrapport de temperatuur, begin- en eindtijd van de incubatieperiode.

4. Bevestiging

Vermeld in het testrapport de wijze van bevestiging en de gevraagde gegevens over de bevestigingsmedia.

Vermeld het aantal geteste kolonies en ook het aantal als *Salmonella* bevestigde kolonies voor elke plaat in tabel 8 (indien een tweede isolatie is gebruikt vermeld de resultaten dan in tabel 9) van het testrapport.

Bijlage 2 (Test rapport)

RINGONDERZOEK II BACTERIOLOGISCHE DETECTIE VAN *SALMONELLA* IN KIPPENFAECES

GEORGANISEERD DOOR HET
NATIONAAL REFERENTIE LABORATORIUM (NRL) VOOR *SALMONELLA*

TESTRAPPORT

Detectie van *Salmonella* in aanwezigheid van kippenfaeces

Laboratoriumcode :

Laboratorium :

Beindatum detectie : - - 1998

Verzending

Aankomst pakket op laboratorium:

datum :..... - 1998

tijd :..... u min

Pakket beschadigd JA

NEE

Koelelementen bij aankomst:

geheel ontdooid

half ontdooid

bevroren

Voorophoping

Medium :

Fabrikant van het medium:

- firmanaam :
- artikelnummer :
- batch nummer :
- expiratie datum :
- pH van medium (na bereiding):

Temperatuur medium voor beënten: °C

Incubatietijd en temperatuur voor het **oplossen van de capsules**:

- begintijd : tijd : u min.
: temperatuur stoof: °C
- eindtijd : tijd : u min.
: temperatuur stoof: °C

Incubatietijd en temperatuur tijdens **voorophoping**:

- begintijd : tijd : u min.
: temperatuur stoof: °C
- eindtijd : tijd : u min.
: temperatuur stoof: °C

Selectieve ophoping

Medium 1 :

Fabrikant van het medium:

- firmanaam :
- artikelnummer :
- batch nummer :
- expiratie datum :
- pH van medium (na bereiding) :

Temperatuur medium voor beënten : °C

Hoeveelheid medium per buis/fles : ml

Gebruikte volume van voorophoping : ml

Incubatietijd en temperatuur tijdens selectieve ophoping:

- begintijd : tijd: u min.
: temperatuur stoof: °C
- einde eerste periode : tijd: u min.
: temperatuur stoof: °C
- einde tweede periode : tijd: u min.
: temperatuur stoof: °C

Als er meer selectieve ophopingsmedia gebruikt worden, vermeld deze dan in een bijlage.

Medium 2 :

Fabrikant van het medium:

- firmanaam :
- artikelnummer :
- batch nummer :
- expiratie datum :
- pH van medium (na bereiding):

Temperatuur medium voor beënten : °C

Hoeveelheid medium per buis/fles : ml

Gebruikte volume van voorophoping : ml

Incubatietijd en temperatuur tijdens selectieve ophoping:

- begintijd : tijd: u min
: temperatuur stoof: °C
- einde eerste periode : tijd: u min
: temperatuur stoof: °C
- einde tweede periode : tijd: u min
: temperatuur stoof: °C

Isolatie

Medium 1 :

Fabrikant van het medium:

- firmanaam :
- artikelnummer :
- batch nummer :
- expiratie datum :
- pH van medium (na bereiding):

Temperatuur medium voor beënten : °C

Incubatielijd en temperatuur voor de **eerste** isolatie:

- begintijd : tijd : u min.
: temperatuur stoof: °C
- eindtijd : tijd : u min.
: temperatuur stoof: °C

Incubatielijd and temperatuur voor de **tweede** isolatie:

- begintijd : tijd : u min.
: temperatuur stoof: °C
- eindtijd : tijd : u min.
: temperatuur stoof: °C

Als er meer isolatiemedia gebruikt worden, vermeld deze dan in een bijlage.

Medium 2 :

Fabrikant van het medium:

- firmanaam :
- artikelnummer :
- batch nummer :
- expiratie datum :
- pH van medium (na bereiding):

Incubatietijd en temperatuur voor de **eerste** isolatie:

- begintijd : tijd : u min.
: temperatuur stoof: °C
- eindtijd : tijd : u min.
: temperatuur stoof: °C

Incubatietijd en temperatuur voor de **tweede** isolatie:

- begintijd : tijd : u min.
: temperatuur stoof: °C
- eindtijd : tijd : u min.
: temperatuur stoof: °C

Bevestiging

Serologische bevestiging

Welke sera zijn gebruikt?

- commerciële sera
- firmanaam:

- sera gemaakt in eigen laboratorium

Biochemische bevestiging

Als er meer bevestigingsmedia gebruikt worden, vermeld deze dan in een bijlage.

Medium 1 :

Fabrikant van het medium:

- firmanaam :
- artikelnummer :
- batch nummer :
- expiratie datum :

Medium 2 :

Fabrikant van het medium:

- firmanaam :
- artikelnummer :
- batch nummer :
- expiratie datum :

Medium 3 :

Fabrikant van het medium:

- firmanaam :
- artikelnummer :
- batch nummer :
- expiratie datum :

Tabel 8 Resultaten van de bevestigingen van de eerste isolatie (capsulenummers 1-20)

no.	selectief ophopingsmedium 1				selectief ophopingsmedium 2			
	eerste ^a medium		tweede ^b medium		eerste medium		tweede medium	
	kol ^c	Sal ^d	kol	Sal	kol	Sal	kol	Sal
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								
15								
16								
17								
18								
19								
20								

- ^a eerste = eerste isolatiemedium dat routinematig gebruikt wordt
- ^b tweede = tweede isolatiemedium dat routinematig gebruikt wordt
- ^c kol = aantal kolonies gebruikt voor bevestiging
- ^d Sal = aantal kolonies bevestigd als *Salmonella*

Tabel 8 (vervolg) *capsulenummers 21-40*

no.	selectief ophopingsmedium 1				selectief ophopingsmedium 2			
	eerste ^a medium		tweede ^b medium		eerste medium		tweede medium	
	kol ^c	Sal ^d	kol	Sal	kol	Sal	kol	Sal
21								
22								
23								
24								
25								
26								
27								
28								
29								
30								
31								
32								
33								
34								
35								
36								
37								
38								
39								
40								

- ^a eerste = eerste isolatiemedium dat routinematig gebruikt wordt
- ^b tweede = tweede isolatiemedium dat routinematig gebruikt wordt
- ^c kol = aantal kolonies gebruikt voor bevestiging
- ^d Sal = aantal kolonies bevestigd als *Salmonella*

Tabel 8 (vervolg) *capsulenummers 41-50 + controles*

no.	selectief ophopingsmedium 1				selectief ophopingsmedium 2			
	eerste ^a medium		tweede ^b medium		eerste medium		tweede medium	
	kol ^c	Sal ^d	kol	Sal	kol	Sal	kol	Sal
41								
42								
43								
44								
45								
46								
47								
48								
49								
50								
C1 ^e								
C2 ^f								

- ^a eerste = eerste isolatiemedium dat routinematig gebruikt wordt
^b tweede = tweede isolatiemedium dat routinematig gebruikt wordt
^c kol = aantal kolonies gebruikt voor bevestiging
^d Sal = aantal kolonies bevestigd als *Salmonella*
^e C1 = procedure controle
^f C2 = negatieve controle

Tabel 9 Resultaten van de bevestigingen van de tweede isolatie (capsulenummers 1-20)

no.	selectief ophopingsmedium 1				selectief ophopingsmedium 2			
	eerste ^a medium		tweede ^b medium		eerste medium		tweede medium	
	kol ^c	Sal ^d	kol	Sal	kol	Sal	kol	Sal
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								
15								
16								
17								
18								
19								
20								

- ^a eerste = eerste isolatiemedium dat routinematig gebruikt wordt
- ^b tweede = tweede isolatiemedium dat routinematig gebruikt wordt
- ^c kol = aantal kolonies gebruikt voor bevestiging
- ^d Sal = aantal kolonies bevestigd als *Salmonella*

Tabel 9 (vervolg) *capsulenummers 21-40*

no.	selectief ophopingsmedium 1				selectief ophopingsmedium 2			
	eerste ^a medium		tweede ^b medium		eerste medium		tweede medium	
	kol ^c	Sal ^d	kol	Sal	kol	Sal	kol	Sal
21								
22								
23								
24								
25								
26								
27								
28								
29								
30								
31								
32								
33								
34								
35								
36								
37								
38								
39								
40								

- ^a eerste = eerste isolatiemedium dat routinematig gebruikt wordt
^b tweede = tweede isolatiemedium dat routinematig gebruikt wordt
^c kol = aantal kolonies gebruikt voor bevestiging
^d Sal = aantal kolonies bevestigd als *Salmonella*

Tabel 9 (vervolg) *capsulenummers 41-50 + controles*

no.	selectief ophopingsmedium 1				selectief ophopingsmedium 2			
	eerste ^a medium		tweede ^b medium		eerste medium		tweede medium	
	kol ^c	Sal ^d	kol	Sal	kol	Sal	kol	Sal
41								
42								
43								
44								
45								
46								
47								
48								
49								
50								
C1 ^e								
C2 ^f								

- ^a eerste = eerste isolatiemedium dat routinematig gebruikt wordt
^b tweede = tweede isolatiemedium dat routinematig gebruikt wordt
^c kol = aantal kolonies gebruikt voor bevestiging
^d Sal = aantal kolonies bevestigd als *Salmonella*
^e C1 = procedure controle
^f C2 = negatieve controle

Opmerkingen en bijzonderheden tijdens de uitvoering van het onderzoek die het resultaat kunnen beïnvloeden:

datum: - - 1998

Naam van de analist die het ringonderzoek heeft uitgevoerd:

.....

handtekening:.....

Naam hoofd van de afdeling:

.....

handtekening:.....

Bijlage 3

Gegevens over de gebruikte media

Tabel 10 *Gegevens over het voorophopingsmedium bpw, gebruikt door de laboratoria*

labcode	fabrikant	art. nummer	starttijd incubatie	eindtijd incubatie
1	bioTrading b.v.	Lab 46	11 u 50 m	09 u 30 m
2	Oxoid	CM 509	15 u 00 m	09 u 10 m
3	Biokar Diagnostics	BK 018	17 u 35 m	11 u 55 m
4	Biotrading	K168 F500	14 u 42 m	08 u 30 m
5	Tritium	B 60146 0225	15 u 40 m	11 u 30 m
6	Oxoid	CM 509	17 u 30 m	13 u 45 m
7	Biokar	BK018	13 u 45 m	-
8	Oxoid	CM 509	13 u 15 m	09 u 05 m
9	Sanofi Pasteur	54170	15 u 00 m	09 u 00 m
10	Biokar Diagnostics	BK 018	10 u 41 m	10 u 30 m
11	Becton/Dickinson	4312367	15 u 30 m	14 u 30 m
12	Tritium	B 601 62 3000	15 u 50 m	08 u 50 m
13	Oxoid	CM 509	11 u 10 m	10 u 30 m
14	Oxoid	CM 509	16 u 30 m	11 u 00 m
15	Biotrading	B61 t/m B64	13 u 15 m	09 u 05 m
16	Merck	1.07228	17 u 10 m	12 u 05 m
17	Biotrading	K 168	15 u 30 m	14 u 00 m
18	Biokar	BK 018	16 u 30 m	12 u 30 m
19	Biotrading	K 168 a 225	11 u 15 m	10 u 30 m
20	Lab M	Lab 46	16 u 35 m	11 u 35 m
21	Tritium	B 601 48 1000	13 u 00 m	08 u 30 m
22	Oxoid	CM 509	11 u 40 m	07 u 38 m
23	Merck	7228 0500	15 u 00 m	11 u 30 m

Tabel 11 *Gegevens over het selectieve ophopingsmedium (labcode 1-14)*

labcode	medium	fabrikant	art. nummer	starttijd incubatie	eindtijd eerste incubatie	eindtijd tweede incubatie
1	MSRV RV	Oxoid	CM 910	10 u 00 m	09 u 00 m	-
			biotrading n.g.	10 u 00 m	08 u 30 m	-
2	RV DIASAL	Oxoid	CM 866	09 u 45 m	14 u 05 m	-
			Boom bv Lab 537	09 u 45 m	08 u 30 m	-
3	RV MSRV	Oxoid	CM 869	13 u 15 m	09 u 35 m	-
			CM 910	13 u 15 m	09 u 40 m	-
4	RV RVS Seleniet MSRV DIASAL M	Oxoid	CM 669	16 u 00 m	13 u 00 m	13 u 00 m
			CM 866	16 u 00 m	13 u 00 m	13 u 00 m
			Biotrading K052 B005	16 u 00 m	13 u 00 m	13 u 00 m
			Difco 1868-17	16 u 00 m	13 u 00 m	13 u 00 m
			Lab M Lab 537	16 u 00 m	13 u 00 m	13 u 00 m
5	RV DIASAL	Tritium	R 150250010	11 u 30 m	10 u 00 m	-
			D 100460250	11 u 30 m	10 u 00 m	-
6	RV MSRV	Merck	1 10 236 000	18 u 00 m	13 u 45 m	-
			CM 0910B	18 u 00 m	13 u 45 m	-
7	RVS DIASAL	Biokar	BK 136	10 u 58 m	08 u 15 m	-
			Lab M Lab 537	10 u 58 m	-	08 u 15 m
8	RV DIASAL	Merck	1 077 00	11 u 05 m	10 u 15 m	-
			Lab M Lab 537	11 u 05 m	10 u 15 m	-
9	DIASAL M	Tritium	D 100-02	10 u 15 m	10 u 15 m	-
			Sanofi P 55777	10 u 15 m	10 u 15 m	-
10	DIASAL M	Lab M	lab 537	11 u 38 m	12 u 55 m	11 u 45 m
			Biokar BK 134	11 u 38 m	12 u 55 m	11 u 45 m
11	RV MSRV	B/D ¹	R 150250010	14 u 30 m	14 u 30 m	-
			CM 910	14 u 30 m	14 u 30 m	-
12	RV DIASAL	Tritium	R 150250010	10 u 15 m	09 u 35 m	-
			eigen fabrikaat	10 u 15 m	09 u 35 m	-
13	RV Seleniet DIASAL M	Oxoid	CM 669	13 u 15 m	11 u 05 m	10 u 30 m
			eigen fabrikaat	13 u 15 m	13 u 15 m	10 u 40 m
			Lab M Lab 537	13 u 15 m	10 u 30 m	-
14	RV MSRV	Oxoid	CM 669	12 u 00 m	13 u 00 m	-
			Difco n.g.	12 u 00 m	13 u 00 m	-

n.g. = niet gerapporteerd

¹ B/D = Becton/Dickinson

vervolg Tabel 11

Gegevens over het selectieve ophopingsmedium (labcode 15-23)

labcode	medium	fabrikant	art. nummer	starttijd incubatie	eindtijd eerste incubatie	eindtijd tweede incubatie
15	DIASAL	Biotrading	Lab 537	11 u 30 m	11 u 40 m	-
	RV ox	Biotrading	K430 B010	11 u 30 m	11 u 40 m	12 u 15 m
16	RV	Merck	1-07700	12 u 45 m	09 u 30 m	-
	DIASAL	Lab M	lab 537	12 u 45 m	09 u 30 m	-
17	RV	Biotrading	130	15 u 00 m	15 u 10 m	14 u 00 m
	DIASAL	Biotrading	035	15 u 00 m	15 u 10 m	14 u 00 m
18	RV	Tritium	R 150250009	13 u 30 m	13 u 30 m	-
	MSRV	Tritium	M 450 02	13 u 30 m	13 u 30 m	-
19	RV	Biotrading	K430 B010	10 u 55 m	08 u 15 m	-
	DIASAL	Lab M	Lab 537	10 u 55 m	08 u 15 m	08 u 15 m
20	MSRV	Lab M	Lab 150	11 u 55 m	09 u 30 m	-
	macro RV	Labo media	061360 050	11 u 55 m	09 u 30 m	-
21	RV	Tritium	R 150250010	09 u 30 m	09 u 00 m	-
	MSRV	Tritium	M 450 02	09 u 30 m	09 u 00 m	-
22	MSRV	Merck	1 09878	09 u 30 m	07 u 30 m	-
23	RV	Merck	107700 0500	13 u 45 m	10 u 11 m	-
	DIASAL	Boom bv	77 0505 65	13 u 45 m	10 u 45 m	-

Tabel 12 *Gegevens over de isolatiemedia, gebruikt door de deelnemende laboratoria*

lab.	medium	fabrikant (art. nummer)	starttijd incubatie 1	eindtijd incubatie 1	starttijd incubatie 2	eindtijd incubatie 2
1	BGA	bioTrading -	09 u 00 m	08 u 30 m	-	-
2	BGA	Oxoid CM 329	16 u 30 m	08 u 05 m	-	-
3	BGA	Oxoid CM 329	11 u 15 m	09 u 05 m	11 u 20 m	09 u 15 m
4	BGA	Biotrading K334 P090	14 u 20 m	13 u 00 m	14 u 00 m	13 u 00 m
5	BPLS + novo	Tritium B 501.02	11 u 00 m	09 u 30 m	10 u 30 m	08 u 30 m
6	BGA	Oxoid CM 329	16 u 30 m	12 u 00 m	-	-
7	XLD	Oxoid CM 469	10 u 05 m	08 u 15 m	08 u 15 m	08 u 15 m
	BGA	Oxoid CM 329	10 u 04 m	08 u 15 m	08 u 15 m	08 u 15 m
8	BGA	Merck 110747	11 u 20 m	11 u 00 m	-	-
9	BGA	Sanofi P 41662	12 u 00 m	12 u 00 m	-	-
	XLD	Sanofi P 41751	11 u 00 m	11 u 00 m	-	-
10	BGA	Biokar BK 091	11 u 45 m	15 u 46 m	-	12 u 32 m
11	BGA	B/D ¹ 9354000	16 u 10 m	11 u 00 m	14 u 15 m	14 u 00 m
12	BGA M	Tritium B 499 02	11 u 00 m	10 u 30 m	-	-
13	BGA	Oxoid CM 329	12 u 00 m	08 u 30 m	14 u 30 m	08 u 30 m
	XLD	Oxoid CM 469	12 u 00 m	08 u 30 m	14 u 30 m	08 u 30 m
14	BGA	Oxoid CM 329	13 u 00 m	14 u 15 m	-	-
15	BGA	Biotrading K008 P090	13 u 05 m	10 u 45 m	13 u 00 m	-
16	BGA	BioMerieux D1041	11 u 15 m	09 u 15 m	-	-
17	BGA	Biotrading 334	16 u 00m ²	15 u 00 m	-	-
			15 u 40m ³	15 u 00 m	14 u 30 m	14 u 30 m
18	BGA	Oxoid B 49902	14 u 15 m	14 u 15 m	-	-
19	BGA	Biotrading K727 P090	10 u 40 m	08 u 15 m	09 u 30 m	08 u 20 m
20	BGA	n.g. 008910029	11 u 42 m	10 u 00 m	-	-
21	BGA	Tritium 905020	10 u 00 m	09 u 00 m	-	-
22	BGA	Oxoid CM 329	10 u 45 m	07 u 30 m	-	-
23	BPLS	Merck 1107470500	11 u 30m ²	10 u 00 m	-	-
			10 u 45m ³	10 u 00 m	-	-

n.g. = niet gerapporteerd

¹ B/D = Becton/Dickinson² na DIASALM³ na RV