

RIVM rapport 285859 011

NRL *Salmonella* ringonderzoek IV en V (1999)

Bacteriologische detectie van *Salmonella*
in aanwezigheid van competitieve flora

N. Voogt en A.W. van de Giessen

augustus 2000

Dit onderzoek werd verricht in opdracht en ten laste van de Inspectie Gezondheidsbescherming, Waren en Veterinaire Zaken in het kader van project 285859, Bacteriële zoönosen, mijlpaal 06/2000.

Abstract

In 1999, two bacteriological collaborative studies were organized by the Dutch National Reference Laboratory (NRL) for *Salmonella* among 26 laboratories participating in the Dutch national programme for control of *Salmonella* in the poultry sector. The main objective of these studies was to test the capacity of these laboratories 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. In the first study the laboratories were allowed to use the method they usually apply to detect *Salmonella* in chicken faeces. In the second study, however, the method was prescribed by the Product Boards for Livestock, Meat and Eggs. They had to use MSR/V as a selective enrichment medium. Depending on the results from previous collaborative studies, laboratories had to test 50 or 15 capsules. In the first study 17 (of the 18) and in the second one 10 (of the 17) participating laboratories isolated *Salmonella* from all 10 positive capsules. So, some experience is necessary to obtain good results using MSR/V.

Inhoud

1. INLEIDING	5
2. DEELNEMENDE LABORATORIA	6
3. MATERIAAL EN METHODEN.....	7
3.1 Bereiding referentiematerialen met <i>S. Typhimurium</i>	7
3.2 Bereiding van monsters met stoorflora	7
3.3 Ringonderzoeken	7
3.4 Statistische analyse van de resultaten	9
4. RESULTATEN.....	10
4.1 Besmettingsniveau van de referentiematerialen.....	10
4.2 Evaluatie van de uitvoering van de ringonderzoeken.....	10
4.3 Testresultaten.....	12
4.3.1 Onderzoek van 15 monsters	12
4.3.2 Onderzoek van 50 monsters	17
5. DISCUSSIE EN CONCLUSIE	20
LITERATUUR.....	21
BIJLAGE 1 VERZENDLIJST.....	22
BIJLAGE 2 PROTOCOL/TESTRAPPORT ONDERZOEK 15 MONSTERS	23
BIJLAGE 3 PROTOCOL/TESTRAPPORT ONDERZOEK 50 MONSTERS	39
BIJLAGE 4 GEGEVENS OVER DE GEBRUIKTE MEDIA.....	59
BIJLAGE 5 RESULTATEN VAN EXTRA RINGONDERZOEK Va	65

Samenvatting

In 1999 werden er in opdracht van de Inspectie Gezondheidsbescherming, Waren en Veterinaire Zaken twee bacteriologische ringonderzoeken (roz IV en V) voor de detectie van *Salmonella* in aanwezigheid van stoorflora georganiseerd door het Nationaal Referentie Laboratorium (NRL) voor *Salmonella*. Aan de ringonderzoeken werd deelgenomen door alle 26 laboratoria die betrokken zijn bij het plan van aanpak *Salmonella* en *Campylobacter* in de pluimveehouderij.

Het belangrijkste doel van deze ringonderzoeken is te testen of de deelnemende laboratoria in staat zijn om *Salmonella* te detecteren in aanwezigheid van stoorflora. Daarvoor werden referentiematerialen met *Salmonella* gebruikt die dienden te worden onderzocht met en zonder toevoeging van kippenfeces. Bij de beoordeling van de resultaten werden in roz IV en V verschillende methoden als maatstaf gehanteerd. De deelnemende laboratoria voerden roz IV uit met de eigen methode voor onderzoek van pluimveemestmonsters in het kader van het plan van aanpak. In roz V was de door de Productschappen Vee, Vlees en Eieren (PVE) voorgeschreven methode voor het aantonen van *Salmonella* in dons, feces en nekvelen afkomstig van pluimvee verplicht. Hierbij wordt als selectief ophopingsmedium alleen MSRV gebruikt.

Naar aanleiding van de resultaten die de deelnemende laboratoria in eerdere ringonderzoeken behaalden moesten in elk van beide ringonderzoeken 50 of 15 capsules onderzocht worden. In ringonderzoeken met 50 capsules moesten er 40 getest worden in combinatie met kippenfeces (4 blanco's, 18 met ± 100 kolonie vormende eenheden (kve) *Salmonella* Typhimurium (STM) en 18 met ± 1000 kve STM)). Tien capsules (vijf met 5 kve *S. Panama* en vijf met ± 100 kve STM) werden zonder feces onderzocht. Bij de deelnemers varieerde het aantal positieve monsters van één tot 18 voor de 18 monsters met 100 kve STM en van 11 tot 18 voor de 18 monsters met 1000 kve STM.

De laboratoria die 15 capsules (vijf blanco's, vijf met ± 100 kve STM en vijf met ± 1000 kve STM) onderzochten dienden deze allemaal te onderzoeken in combinatie met feces. In roz IV isoleerden 17 van de 18 laboratoria *Salmonella* uit de vijf monsters met 100 kve STM en uit de vijf monsters met 1000 kve STM. In roz V isoleerden 10 van de 17 deelnemende laboratoria *Salmonella* uit alle 10 positieve capsules. Het goed werken met semi-solid media, waaronder MSRV, vereist enige ervaring. Het PVE gaf de zeven laboratoria die niet uit alle positieve capsules van roz V *Salmonella* isoleerden, de kans deze ervaring op te doen in de vorm van een extra ringonderzoek. In dit ringonderzoek werden door alle laboratoria goede resultaten behaald.

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 salmonellose voordoen (7). 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, Waren en Veterinaire Zaken (Inspectie W&V) heeft uitgewezen dat in Nederland in 1998 ca. 20% van de rauwe kipproducten in de winkel besmet was met *Salmonella* (H. 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 voor de pluimveevleessector opgesteld, 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 middels bacteriologisch onderzoek van o.a. mestmonsters en blindedarmmonsters. Het bacteriologisch onderzoek wordt daarbij uitgevoerd door een aantal laboratoria die daarvoor een voorlopige erkenning van het PVE hebben verkregen, mede op advies van de Inspectie W&V. In het kader van deze aanpak in de pluimveesector en de functie van het RIVM als Nationaal Referentielaboratorium voor *Salmonella* organiseert dit instituut in opdracht van de Inspectie W&V tweemaal per jaar een ringonderzoek voor de bacteriologische detectie van *Salmonella* in monsters kippenfeces. Per ringonderzoek wordt door de PVE mede op advies van de Inspectie W&V een lijst opgesteld met deelnemende laboratoria.

Daarbij wordt onderscheid gemaakt in het aantal monsters dat door de laboratoria onderzocht moet worden. Laboratoria die in het voorgaande ringonderzoek naar de normen van de PVE voldoende gescoord hebben, dienen 15 monsters te onderzoeken. Laboratoria die in het voorgaande ringonderzoek onvoldoende scoorden (of voor het eerst aan het ringonderzoek deelnemen), dienen 50 monsters te onderzoeken.

In 1999 zijn twee ringonderzoeken georganiseerd te weten ringonderzoek IV (roz IV, voorjaar 99) en V (roz V, najaar 99). Er deden in totaal 26 laboratoria mee, waarvan 19 aan beide ringonderzoeken.

2. Deelnemende laboratoria

plaats	laboratoria	roz IV *	rozV *
Boxmeer	Laboratorium Maasweide	x	x
's-Hertogenbosch	Biochem Food N.V.	x	x
Ciney (B)	C. de Prévention et de Guidance Vet.		x
Deventer	Gezondheidsdienst voor Dieren	x	x
Diepenbeek (B)	Dr. L. Willems Instituut	x	
Drongen (B)	Prov. lab. voor Dierenziektebestrijding		x
Ede	Conex laboratorium	x	x
Harderwijk	DOC NW-Veluwe	x	x
Haulerwijk	Laboratorium Heijs/De Vries	x	x
Heerenveen	Analytico B.V.	x	x
Lelystad	ID Lelystad	x	x
Lier (B)	Prov. lab. voor Dierenziektebestrijding		x
Putten	Centraal laboratorium Storteboom	x	x
Ruurlo	Dierenartsenpraktijk De Achterhoek	x	x
Slagharen	Pluimveepraktijk "Noord en Oost"	x	x
Someren	Pluimveepraktijk Zuid-Nederland	x	x
Someren	Veterinair Centrum Someren	x	x
Torhout (B)	Prov. lab. voor Dierenziektebestrijding		x
Veenendaal	QA Adviesburo van Elst B.V.	x	x
Veghel	Coöperatief Centraal Laboratorium	x	x
Vosselaar (B)	Lavetan	x	x
Wageningen	Westland Independent laboratories bv	x	
Weert	Pro Health	x	x
Wezep	Plukon Laboratorium	x	x
Wijhe	KBBL	x	x
Zevenaar	Bachevo laboratorium	x	

* roz = ringonderzoek

3. Materiaal en methoden

3.1 Bereiding referentiematerialen met *S. Typhimurium*

In beide ringonderzoeken zijn referentiematerialen (RM) gebruikt, die bereidt zijn uit met *Salmonella* Typhimurium (STM) hoog besmet melkpoeder (HCMP). De bereiding van dit HCMP is eerder beschreven door in 't Veld *et al* (3). Vanuit dit poeder zijn batches RM gemaakt met een besmettingsniveau van respectievelijk 100 en 1000 kolonie-vormende eenheden (kve) STM per capsule. Om dit besmettingsniveau te kunnen bereiken is het HCMP in stappen verdund met steriel melkpoeder (Nestle system 24) met een 1:1 mengverhouding (g/g) per verdunningsstap. In totaal zijn er in roz IV en V drie batches RM gebruikt met een besmettingsniveau van 100 kve STM en drie batches met 1000 kve STM. Om het aantal *Salmonella* bacteriën per capsule te schatten is per batch in minimaal 25 capsules het *Salmonella*-kiemgetal bepaald. De hiervoor gebruikte methode staat beschreven in RIVM rapport 285859003 (4). De capsules werden tot gebruik opgeslagen bij $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

3.2 Bereiding van monsters met stoorflora

Voor de bereiding van monsters met stoorflora is gebruik gemaakt van feces afkomstig van een koppel leghennen met een *Salmonella*-negatieve status. Het fecesmateriaal werd verzameld door een medewerker van de Inspectie W&V. Om de afwezigheid van *Salmonella* in het fecesmateriaal vast te stellen, werden vijf porties feces van 25 gram bacteriologisch onderzocht volgens de standaardmethode van het RIVM (2). Uitgaande van deze *Salmonella*-negatieve feces werden fecesmonsters voor gebruik in de ringonderzoeken gereed gemaakt zoals eerder beschreven door Voogt *et al* (5).

3.3 Ringonderzoeken

In totaal namen 26 laboratoria deel aan roz IV en/of V (zie hoofdstuk 2: Deelnemende laboratoria). Het aantal deelnemende laboratoria en het aantal door hen onderzochte capsules is hieronder weergegeven. Het totaal aantal capsules dat door een laboratorium onderzocht moest worden (15 of 50) is vooraf bepaald door de PVE.

Ringonderzoek	aantal onderzochte capsules	aantal laboratoria
IV	15	18
	50	4
		22 (totaal)
V	15	18
	50	6
		24 (totaal)

Negentien laboratoria namen deel aan zowel roz IV als roz V. Vijftien van deze 19 laboratoria onderzochten in beide ringonderzoeken 15 capsules en één laboratorium onderzocht twee keer 50 capsules. Twee laboratoria onderzochten in roz IV 50 capsules en in roz V 15 capsules. Bij één laboratoria was dat precies andersom: 15 capsules in roz IV en 50 capsules in roz V. Drie laboratoria zagen na roz IV af van verdere deelname. Vier laboratoria deden in roz V voor de eerste keer mee.

Onderzoek van 15 monsters (roz IV en V)

De laboratoria die 15 capsules onderzochten dienden deze allemaal te onderzoeken in combinatie met kippenfeces. Na voorincubatie van de capsules moest één gram kippenfeces worden toegevoegd. Vijf van de 15 capsules bevatten \pm 100 kve STM, vijf capsules bevatten \pm 1000 kve STM en vijf waren blanco capsules. Alle deelnemende laboratoria dienden daarnaast nog twee controles in te zetten. Dit betrof één procedure-controle, waarbij geen capsule en geen feces aan de media diende te worden toegevoegd en één negatieve controle, waarbij alleen één gram feces moest worden toegevoegd.

Onderzoek van 50 monsters (roz IV en V)

De laboratoria die 50 capsules onderzochten dienden er 40 te testen in combinatie met kippenfeces. Na voorincubatie van de capsules moest één gram kippenfeces worden toegevoegd. Achttien capsules bevatten ongeveer 100 kve STM per capsule, 18 andere capsules ongeveer 1000 kve STM en vier waren blanco capsules. De overige tien capsules (vijf met 5 kve *Salmonella* Panama en vijf met \pm 100 kve STM per capsule) moesten zonder toevoeging van feces worden getest. Ook bij het onderzoek van 50 monsters diende er een procedure- en negatieve controle te worden ingezet (zie 'Onderzoek van 15 monsters').

Drie weken voor de start van het ringonderzoek ontvingen de deelnemende laboratoria een protocol en een testrapport. In bijlagen 2 en 3 zijn het protocol en het testrapport weergegeven voor het onderzoek van respectievelijk 15 en 50 monsters in roz IV. In roz V werden soortgelijke protocollen en testrapporten gebruikt. De 15 of 50 individueel genummerde capsules en drie of vijf porties bevroren feces werden in de week voorafgaand aan het ringonderzoek verstuurd. De inhoud van de capsules was bij de deelnemers niet bekend.

Na aankomst op het laboratorium moesten, zoals beschreven in het protocol, de capsules en de feces tot het begin van het ringonderzoek bewaard worden bij $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. De deelnemers dienden de in het protocol beschreven procedure te volgen. De benodigde onderzoeksgegevens en de eindresultaten dienden d.m.v. het testrapport aan het RIVM te worden gerapporteerd.

In roz V waren de deelnemende laboratoria verplicht om de PVE-branchemethode voor het aantonen van *Salmonella* in dons, feces en nekvellen afkomstig van pluimvee (1) te gebruiken. Hierbij wordt als selectief ophopingsmedium alleen MSR/V gebruikt.

3.4 Statistische analyse van de resultaten

De resultaten van het onderzoek van 50 monsters werden per laboratorium statistisch geanalyseerd. Daarbij werden de betrouwbaarheidsintervallen voor de fractie positieve monsters berekend met behulp van arcsin $\sqrt{}$ transformatie. De variantie-stabiliserende arcsin $\sqrt{}$ transformatie zorgt ervoor dat de variantie voor alle uitkomsten (ongeveer) hetzelfde is.

De resultaten van het onderzoek van 15 monsters werden per laboratorium getoetst aan de door het PVE gestelde criteria.

4. Resultaten

4.1 Besmettingsniveau van de referentiematerialen

Het gemiddeld aantal kve *Salmonella* per capsule en de homogeniteit van de besmetting is voor elk van de zes gebruikte batches bepaald. De resultaten hiervan zijn weergegeven in Tabel 1.

Tabel 1 *Het besmettingsniveau en de homogeniteit van de batches referentiematerialen*

	Gemiddeld aantal kve per capsule	Homogeniteit (T ₂ (I-1))
100 kve STM		
batch 220896	94	1,47
batch 071096	113	2,36
batch 241097	92	1,41
1000 kve STM		
batch 220896	997	1,32
batch 310399	1175	1,37
batch 300999	1390	1,58

4.2 Evaluatie van de uitvoering van de ringonderzoeken

Voorophoping

In beide ringonderzoeken is door alle deelnemende laboratoria gebufferd pepton water (BPW) als voorophopingsmedium gebruikt. In Tabel 13 (bijlage 4) zijn de fabrikanten en artikelnummers weergegeven. Vier laboratoria (labcode 2, 8, 21 en 23) gebruikten in de twee ringonderzoeken media van verschillende leveranciers.

De capsules moesten een half uur in de BPW bij 37 °C geïncubeerd worden voordat één gram feces diende te worden toegevoegd. In roz IV incubeerden 20 van de 22 laboratoria de capsules tussen 30 en 35 minuten. Laboratorium 15 loste de capsules 40 minuten op voordat de feces werd toegevoegd. Laboratorium 26 heeft de incubatietijd niet gerapporteerd. In roz V incubeerden 21 van de 23 laboratoria de capsules tussen de 30 en 35 minuten. Laboratorium 15 en 17 losten de capsules respectievelijk 40 en 60 minuten op.

Volgens de door de PVE voorgeschreven branchemethode (1) moet BPW gedurende 16 - 20 uur bij 37 °C worden geïncubeerd. Dertien en 14 laboratoria in respectievelijk roz IV en V incubeerden het medium binnen de voorgeschreven tijd (zie ook Tabel 13). Vijf van de overige deelnemers (labcode 1, 2, 11, 15 en 20) incubeerden in beide ringonderzoeken het voorophopingsmedium langer dan de voorgeschreven 20 uur. De incubatieperiode varieerde voor deze vijf laboratoria tussen 20 uur 15 minuten (labcode 1, roz IV) en 25 uur 15 minuten (labcode 11, roz IV). Twee laboratoria (labcode 4 en 7) incubeerden het medium in één van de twee ringonderzoeken te lang. Eén laboratorium (labcode 25) rapporteerde in roz IV de eindtijd niet en incubeerde de BPW in roz V te lang (22 uur 45 minuten).

Selectieve ophoping

De door de laboratoria in roz IV gebruikte selectieve ophopingsmedia met de bijbehorende fabrikanten en incubatietijden zijn vermeld in Tabel 14 (bijlage 4). De door de PVE voorgeschreven methode vermeldt een incubatietijd van 24 ± 2 uur en voor niet-verdachte of negatieve platen nogmaals 24 ± 2 uur. Zeventien van de 22 deelnemende laboratoria incubeerden binnen de voorgeschreven tijd. Vier laboratoria (labcode 4, 11, 16 en 20) incubeerden tussen de 21 en 22 uur. Laboratorium 26 rapporteerde geen incubatietijd.

In roz V zijn alleen de resultaten beoordeeld die behaald zijn met MSR/V als selectief ophopingsmedium conform de door de PVE vastgestelde branchemethode. De door de deelnemers gebruikte MSR/V, artikelnummers en incubatietijden staan vermeld in Tabel 15 (bijlage 4). De voorgeschreven incubatietijd is 24 ± 2 uur en voor niet-verdachte of negatieve platen nogmaals 24 ± 2 uur. Drie van de 22 laboratoria (labcode 6, 16 en 20) incubeerden de MSR/V tussen de 21 en 22 uur. De overige laboratoria incubeerden het medium binnen de voorgeschreven periode. Laboratorium 10 rapporteerde geen incubatietijd.

Isolatie

De door de laboratoria in roz IV en V gebruikte isolatiemedia zijn weergegeven in Tabel 16 (bijlage 4). Als eerste isolatiemedium werd door de meeste laboratoria BGA gebruikt; laboratorium 5 en 25 gebruikten BPLS. Zeven laboratoria gebruikten een tweede isolatiemedium: bij vier laboratoria was dit XLD en bij de overige drie XLT-4. Laboratorium 18 en 25 zetten drie verschillende isolatiemedia in, respectievelijk Rambach, BGA, XLT4 en BPLS, XLD, Caso agar. Zeven van de 26 laboratoria incubeerden het isolatiemedium korter dan de voorgeschreven tijd van 24 ± 2 uur; de incubatietijd varieerde tussen 20 uur en 21 uur 45 m.

4.3 Testresultaten

4.3.1 Onderzoek van 15 monsters

Het aantal monsters waaruit *Salmonella* werd geïsoleerd met MSR/V als selectief ophopingsmedium staat voor beide ringonderzoeken weergegeven in Tabel 2. In deze tabel zijn tevens de resultaten van roz IV weergegeven, waarbij positieve isolaties via andere selectieve ophopingsmedia zijn inbegrepen.

Eén laboratorium (labcode 8) isoleerde in roz IV *Salmonella* uit twee blanco capsules. Daarbij werd in beide gevallen RV als selectief ophopingsmedium gebruikt. Door geen van de andere laboratoria werd *Salmonella* uit de blanco capsules geïsoleerd.

Zeven laboratoria gebruikten in beide ringonderzoeken MSR/V. Vijf van de zeven isoleerden *Salmonella* beide keren uit vier of vijf van de vijf monsters met 100 kve STM en uit alle vijf monsters met 1000 kve STM. Eén laboratorium (labcode 15) isoleerde in roz IV en V *Salmonella* respectievelijk uit drie en twee monsters met 100 kve STM en uit twee en drie monsters met 1000 kve STM. Een ander laboratorium (labcode 21) isoleerde in roz IV *Salmonella* uit de vijf monsters met 100 kve STM en uit de vijf monsters met 1000 kve STM, maar vond in roz V slechts één monster met 100 kve STM en drie monsters met 1000 kve STM positief voor *Salmonella*. Zeven andere laboratoria gebruikten MSR/V in roz V voor de eerste keer. Zes van deze zeven laboratoria isoleerden *Salmonella* uit vier of vijf van de vijf monsters met 100 kve STM en uit alle vijf monsters met 1000 kve STM. Laboratorium 16 isoleerde *Salmonella* uit één monster met 100 kve STM en uit vier monsters met 1000 kve STM, terwijl dit laboratorium in roz IV met DIASALM als selectief ophopingsmedium alle vijf monsters met zowel 100 als 1000 kve STM positief vond voor *Salmonella*.

In zowel roz IV als V werd door de deelnemende laboratoria geen *Salmonella* geïsoleerd uit de procedure - en de negatieve controles.

In Tabel 3 en 4 zijn de resultaten per selectief ophopingsmedium te zien voor monsters met respectievelijk 100 en 1000 kve STM. In totaal 18 keer werd er in één van beide ringonderzoeken RV in combinatie met een semi-solid medium (DIASALM of MSR/V) gebruikt. Bij de monsters met 100 kve STM scoorde bij 10 laboratoria het semi-solid medium beter en bij twee deelnemers werden er met RV betere resultaten behaald. De overige zes laboratoria vonden geen verschil in resultaten. Bij de monsters met 1000 kve STM waren de resultaten van de verschillende ophopingsmedia bij 10 laboratoria hetzelfde, terwijl vier deelnemers meer *Salmonella* isoleerden met het gebruik van RV en vier andere laboratoria betere resultaten behaalden met het gebruik van een semi-solid medium.

In totaal vier laboratoria gebruikten in beide ringonderzoeken een combinatie van RV en een semi-solid medium. Drie laboratoria (labcode 4, 11 en 20) isoleerden in één ringonderzoek meer *Salmonella* uit de monsters met 100 kve STM bij gebruik van een semi-solid medium en vonden in het andere ringonderzoek geen verschil in resultaten, terwijl laboratorium 16 in beide ringonderzoeken betere resultaten behaalde met het gebruik van een semi-solid medium.

Uit de monsters met 1000 kve STM werden door laboratorium 11 in beide ringonderzoeken met zowel RV als een semi-solid medium dezelfde resultaten behaald. Laboratorium 16 en 20 vonden in één ringonderzoek geen verschil tussen de media, terwijl in het andere ringonderzoek het semi-solid medium beter scoorde. Laboratorium 4 isoleerde één keer hetzelfde aantal salmonella's en één keer meer salmonella's met het gebruik van RV als selectief ophopingsmedium.

Tabel 2 Het aantal monsters ($n_{\text{totaal}} = 15$) waaruit door de deelnemende laboratoria *Salmonella* is geïsoleerd met behulp van de PVE-branchemethode (met MSR_V als selectief ophopingsmedium) in de ringonderzoeken IV en V

labcode	blanco's (n=5)		STM 100 (n=5)		STM 1000 (n=5)	
	roz IV	roz V	roz IV	roz V	roz IV	roz V
1	0 (0)	0	5 (5 ¹)	5	5 (5 ¹)	5
4	0 (0)	0	- (5)	-	- (5)	-
5	0 (0)	**	- (5)	**	- (5)	**
7	0 (0)	0	5 (5)	5	5 (5)	5
8	- (2)	*	- (4)	*	- (5)	*
9	0 (0)	0	- (5)	5	- (5)	5
10	*	0	*	5	*	5
11	0 (0)	0	5 (5)	4	5 (5)	5
13	0 (0)	0	5 (5)	5	5 (5)	5
14	0 (0)	0	- (5)	5	- (5)	5
15	0 (0)	0	3 (5)	2	2 (5)	3
16	0 (0)	0	- (5)	1	- (5)	4
17	0 (0)	0	- (5)	4	- (5)	5
19	*	0	*	5	*	5
20	0 (0)	0	- (5)	5	- (5)	5
21	0 (0)	0	5 (5)	1	5 (5)	3
23	0 (0)	0	- (5)	4	- (5)	5
24	0 (0)	0	5 (5)	5	5 (5)	5
25	0 (0)	0	- (5)	5	- (5)	5
26	0 (0)	**	- (5)	**	- (5)	**

- 1 het aantal monsters waaruit *Salmonella* is geïsoleerd inclusief isolaties via andere selectieve ophopingsmedia dan MSR_V
- monsters niet onderzocht met MSR_V
- * deelgenomen aan ringonderzoek met 50 capsules
- ** niet aan ringonderzoek deelgenomen

Tabel 3 *Het aantal door de deelnemende laboratoria gevonden Salmonella positieve isolaties per selectief ophopingsmedium uit monsters met 100 kve STM (n = 5) in de ringonderzoeken IV / V*

lab	RV			DIASALM			MSRV			RVS
	BGA	XLD	BPLS	BGA	XLD	BPLS	BGA	XLD	BPLS	BGA
1	2 / -						5 / -			
4	4 / 4			5 / 4						
5 ¹			5 /			5 /				
7	4 / -						5 / 5			
8 ²	2 /			4 /						
9	5 / -	5 / -		5 / -	5 / -		- / 5			
10 ³							1 / 5			
11	5 / 3	5 / -		5 / -			5 / 4			
13	5 / -						5 / 5			
14	2 / -			5 / -			- / 5			
15	5 / -						3 / 2			
16	3 / 2			5 / 5			- / 1			
17				5 / 5			- / 4			4 / 5
19 ³				1 / 2			1 / 5			
20	5 / 2			5 / 4			- / 5			
21							5 / 1			4 / 4
23	5 / -			4 / -			- / 4			
24							5 / 5			
25			5 / -						- / 5	
26 ¹	4 /			5 /						

¹ niet aan ringonderzoek V deelgenomen

² deelgenomen aan ringonderzoek V met 50 capsules

³ deelgenomen aan ringonderzoek IV met 50 capsules

- monsters niet onderzocht met desbetreffende selectieve ophopingsmedium

Tabel 4 Het aantal door de deelnemende laboratoria gevonden *Salmonella* positieve isolaties per selectief ophopingsmedium uit monsters met 1000 kve STM ($n = 5$) in de ringonderzoeken IV / V

lab	RV			DIASALM			MSRV			RVS
	BGA	XLD	BPLS	BGA	XLD	BPLS	BGA	XLD	BPLS	BGA
1	4 / -						5 / -			
4	5 / 5			5 / 4						
5 ¹			5 /			5 /				
7	3 / -						5 / 5			
8 ²	5 /			3 /						
9	5 / -	5 / -		5 / -	5 / -		- / 5			
10 ³							1 / 5			
11	5 / 5	5 / -		5 / -			5 / 5			
13	5 / -						5 / 5			
14	5 / -			5 / -			- / 5			
15	5 / -						2 / 3			
16	5 / 1			5 / 5			- / 4			
17				5 / 5			- / 5			5 / 5
19 ³				1 / 0			1 / 5			
20	5 / 4			5 / 5			- / 5			
21							5 / 3			5 / 5
23	5 / -			2 / -			- / 5			
24							5 / 5			
25			5 / -						- / 5	
26 ¹	5 /			5 /						

¹ niet aan ringonderzoek V deelgenomen

² deelgenomen aan ringonderzoek V met 50 capsules

³ deelgenomen aan ringonderzoek IV met 50 capsules

- monsters niet onderzocht met desbetreffende selectieve ophopingsmedium

4.3.2 Onderzoek van 50 monsters

In Tabel 5 zijn de resultaten weergegeven van het onderzoek van 50 capsules/monsters in ringonderzoeken IV en V. Voor roz IV zijn naast de resultaten behaald met het selectieve ophopingsmedium MSR/V ook de resultaten verkregen met andere selectieve ophopingsmedia te zien.

Alle laboratoria isoleerden *Salmonella* uit de vijf capsules met 5 kve *S. Panama* en uit de vijf capsules met 100 kve STM (zonder feces).

Van de vier laboratoria (labcode 3, 6, 12 en 18) die in roz V voor het eerst deelnamen isoleerde laboratorium 6 *Salmonella* uit de 18 monsters met 100 kve STM en uit de 18 monsters met 1000 kve STM. Laboratorium 18 vond één van de 18 monsters met 100 kve STM negatief voor *Salmonella* en isoleerde *Salmonella* uit alle 18 monsters met 1000 kve STM. Laboratorium 3 en 12 isoleerden *Salmonella* uit respectievelijk één en 12 monsters met 100 kve STM en uit 11 en 15 monsters met 1000 kve STM. In Tabel 6 zijn de bijbehorende percentages positieve monsters en 95% betrouwbaarheidsintervallen weergegeven.

Laboratorium 8 scoorde in roz IV onvoldoende en onderzocht daarom in roz V 50 capsules. Uit zes van de 18 monsters met 100 kve STM en uit 11 van de 18 monsters met 1000 kve STM werd *Salmonella* geïsoleerd door dit laboratorium. Laboratorium 19 onderzocht in roz IV 50 capsules en isoleerde *Salmonella* uit alle met *Salmonella* besmette capsules, zodat in roz V 15 capsules moesten worden onderzocht. Laboratorium 2 isoleerde in roz IV respectievelijk roz V *Salmonella* uit 15 en 18 van de in totaal 18 monsters met 100 kve STM. In beide ringonderzoeken werd uit 18 van de 18 monsters met 1000 kve STM *Salmonella* geïsoleerd.

In Tabel 7 en 8 zijn de resultaten weergegeven per selectief ophopingsmedium voor monsters met respectievelijk 100 en 1000 kve STM. Laboratorium 2 onderzocht in beide ringonderzoeken 50 monsters, waarbij alleen in roz V gebruik gemaakt werd van MSR/V. Hiermee werd uit alle 18 monsters met 100 kve STM en uit alle 18 monsters met 1000 kve STM *Salmonella* geïsoleerd. In roz IV werd door laboratorium 2 gebruik gemaakt van een combinatie van RV en DIASALM waarbij *Salmonella* uit 15 van de 18 monsters met 100 kve STM en uit alle 18 monsters met 1000 kve STM werd geïsoleerd. De overige acht laboratoria onderzochten in één van de twee ringonderzoeken 50 monsters. In roz IV vond laboratorium 10 alle 18 monsters met 100 kve STM en alle 18 monsters met 1000 kve STM positief voor *Salmonella*. Hierbij werd gebruik gemaakt van een combinatie van RV en DIASALM. Laboratorium 19 isoleerde *Salmonella* uit alle monsters met het gebruik van DIASALM en MSR/V, maar vond met het gebruik van alleen MSR/V acht en vijf monsters met respectievelijk 100 en 1000 kve STM negatief voor *Salmonella*.

Door één van de laboratoria (labcode 2) werd in roz V *Salmonella* uit de procedure controle geïsoleerd. Uit de overige negatieve- en procedure controles werd door de deelnemende laboratoria geen *Salmonella* geïsoleerd.

Tabel 5 Het aantal capsules/monsters ($n_{\text{totaal}} = 50$) waaruit door de deelnemende laboratoria *Salmonella* is geïsoleerd met behulp van de PVE-branchemethode (met MSR/V als selectief ophopingsmedium) in de ringonderzoeken IV en V

lab	zonder feces				met feces					
	aantal pos. capsules met 5 kve S. Pan. (n=5)		aantal pos. capsules met 100 kve STM (n=5)		aantal pos. blanco's (n=4)		aantal pos. monsters met 100 kve STM (n=18)		aantal pos. monsters met 1000 kve STM (n=18)	
	roz IV	roz V	roz IV	roz V	roz IV	roz V	roz IV	roz V	roz IV	roz V
2	-(5 ¹)	5	-(5 ¹)	5	-(0 ¹)	0	- (15 ¹)	18	- (18 ¹)	18
3	**	5	**	5	**	0	**	1	**	11
6	**	5	**	5	**	0	**	18	**	18
8	*	5	*	5	*	0	*	6	*	11
10	-(5)	*	-(5)	*	-(0)	*	-(18)	*	-(18)	*
12	**	5	**	5	**	0	**	12	**	15
18	**	5	**	5	**	0	**	17	**	18
19	5 (5)	*	5 (5)	*	0 (0)	*	10 (18)	*	13 (18)	*
22	-(5)	**	-(5)	**	-(0)	**	-(16)	**	- (17 ²)	**

¹ het aantal monsters waaruit *Salmonella* is geïsoleerd inclusief isolaties via andere selectieve ophopingsmedia dan MSR/V

² één capsule met 1000 kve STM niet ontvangen

* deelgenomen aan ringonderzoek met 15 capsules

** niet aan ringonderzoek deelgenomen

- monsters niet onderzocht met desbetreffende selectieve ophopingsmedium

Tabel 6 Aantal en percentage positieve monsters met 100 en 1000 kve STM

Gevonden aantal positieve monsters (n=18)	% positief	95% betrouwbaarheidsinterval
1	5,56	$5,0 \cdot 10^{-4} - 20,8$
6	33,3	13,7 – 56,6
10	55,6	32,4 – 77,5
11	61,1	37,8 – 82,0
12	66,7	43,4 – 86,3
13	72,2	49,4 – 90,1
15	83,3	62,8 – 96,6
16	88,9	70,4 – 98,9
17	94,4	79,2 – 99,9

Tabel 7 *Het aantal door de deelnemende laboratoria gevonden Salmonella positieve isolaties per selectief ophopingsmedium uit monsters met 100 kve STM (n = 5) in de ringonderzoeken IV / V*

lab	RV	DIASALM		MSRV			Selenite	
	BGA	BGA	XLD	BGA	XLT4	Ram bach	BGA	XLT4
2	8 / -	13 / -		- / 18				
3 ¹					/ 1		/ 1	/ 2
6 ¹					/ 18		/ 13	/ 4
8 ²				/ 6				
10 ³	18 /	18 /						
12 ¹					/ 12		/ 1	/ 1
18 ¹						/ 17	/ 15	/ 6
19 ³		18 /		10 /				
22 ⁴		16 /	16 /					

- ¹ niet aan ringonderzoek IV deelgenomen
² deelgenomen aan ringonderzoek IV met 15 capsules
³ deelgenomen aan ringonderzoek V met 15 capsules
⁴ niet aan ringonderzoek V deelgenomen
- monsters niet onderzocht met desbetreffende selectieve ophopingsmedium

Tabel 8 *Het aantal door de deelnemende laboratoria gevonden Salmonella positieve isolaties per selectief ophopingsmedium uit monsters met 1000 kve STM (n = 5) in de ringonderzoeken IV / V*

lab	RV	DIASALM		MSRV			Selenite	
	BGA	BGA	XLD	BGA	XLT4	Ram bach	BGA	XLT4
2	14 / -	17 / -		- / 18				
3 ¹					/ 12		/ 11	/ 10
6 ¹					/ 18		/ 14	/ 10
8 ²				/ 11				
10 ³	18 /	18 /						
12 ¹					/ 15		/ 9	/ 5
18 ¹						/ 18	/ 17	/ 8
19 ³		14 /		13 /				
22 ⁴		17 ² /	17 ² /					

- ¹ niet aan ringonderzoek IV deelgenomen
² deelgenomen aan ringonderzoek IV met 15 capsules
³ deelgenomen aan ringonderzoek V met 15 capsules
⁴ niet aan ringonderzoek V deelgenomen
- monsters niet onderzocht met desbetreffende selectieve ophopingsmedium

5. Discussie en conclusie

Bij alle gebruikte batches RM was sprake van overdispersie tussen de besmettingsniveaus van de capsules ($T_2/(I-1) > 1$). De batches zijn wel gebruikt in de ringonderzoeken, omdat het vinden van een capsule zonder *Salmonella* verwaarloosbaar klein is door het hoge besmettingsniveau van de capsules.

Bij de beoordeling van de resultaten in roz IV en V is een verschillende maatstaf gehanteerd. In roz IV golden de resultaten behaald met de door het laboratorium routinematig gebruikte methode voor de detectie van *Salmonella* in pluimveemonsters. In roz V daarentegen was het resultaat behaald met de PVE-branchemethode bepalend. Dit laatste betekent het resultaat behaald met MSR/V als selectief ophopingsmedium.

Bij het onderzoek van 15 monsters werd in de beide ringonderzoeken door 14 verschillende laboratoria in totaal 21 keer het onderzoek uitgevoerd met gebruik van MSR/V. In vier gevallen (bij drie laboratoria) was het aantal *Salmonella* positieve isolaties lager dan de norm die hiervoor door de PVE is gesteld.

De zes laboratoria die in roz V 50 monsters moesten onderzoeken, gebruikten MSR/V voor de eerste keer. Drie van deze zes laboratoria voldeden niet aan de door de PVE gehanteerde criteria. Naast MSR/V hebben deze drie laboratoria de monsters ook getest met seleniet-cystine bouillon (SC), waarmee echter geen betere resultaten werden behaald. In een eerder ringonderzoek (5) is al aangetoond dat SC minder geschikt is voor de isolatie van *Salmonella* uit de matrix feces.

In ringonderzoek III (6) is geconcludeerd dat het goed werken met semi-solid media enige ervaring vereist. De PVE heeft daarom besloten om aan de resultaten van roz V geen consequenties te verbinden. Voorts is besloten om een zevental laboratoria in de vorm van een extra ringonderzoek (Va) een kans te geven ervaring op te doen met het gebruik van MSR/V. De resultaten van dit extra ringonderzoek zijn weergegeven in bijlage 5. In dit extra ringonderzoek zijn door alle deelnemende laboratoria goede resultaten behaald.

In het voor- en najaar 2000 zullen door het RIVM opnieuw ringonderzoeken voor bacteriologische detectie van *Salmonella* georganiseerd worden. De PVE zal de laboratoria beoordelen aan de hand van de resultaten behaald met de PVE-branchemethode.

Literatuur

1. PVE Branchemethode voor het aantonen van *Salmonella* in dons, feces en nekvellen afkomstig van pluimvee- Voorschrift Productschappen Vee, Vlees en Eieren (dd 17-02-99; revisie nr.3)
2. RIVM SOP nr. MGB/M124. Bepaling van de aan- of afwezigheid van *Salmonella* in een bepaalde hoeveelheid van levensmiddelen, diervoeders, destructiemateriaal en feces Revisie nr. 0.
3. Veld PH in 't, Strijp van-Lockefeer NGWM, Havelaar AH, Maier EA. The certification of a reference material for the evaluation of the ISO method for the detection of *Salmonella*. Journal of Applied Bacteriology, 1996; 80:496-504.
4. 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.
5. 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.
6. Voogt N, Veld PH in 't, Nagelkerke N, Giessen AW van de. NRL *Salmonella* ringonderzoek III: bacteriologische detectie van *Salmonella* in aanwezigheid van competitieve flora. Bilthoven: Rijksinstituut voor Volksgezondheid en milieu; 1999 juli. Rapport 285859 010.
7. 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 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 ir. Tj. de Boer
- 11-15 Stuurgroep laboratoria Plan van Aanpak PVE
- 16-41 Deelnemers aan het ringonderzoek (verzending via Inspectie W&V)
- 42 Directeur Volksgezondheid RIVM prof. dr. G. Elzinga
- 43 Directeur Sector 2 (volksgezondheidsonderzoek) prof. dr. ir. D. Kromhout
- 44 Hoofd Microbiologisch Laboratorium voor Gezondheidsbescherming (MGB) dr. ir. A.M. Henken
- 45-46 Auteurs
- 47 Depot Nederlandse publikaties en Nederlandse bibliografie
- 48 Strategisch Bureau Directie (SBD)/Voorlichting en Public Relations
- 49 Bibliotheek RIVM
- 50 Bureau Rapportenregistratie
- 51-65 Bureau Rapportenbeheer
- 66-75 Reserve exemplaren

Bijlage 2 Protocol/testrapport onderzoek 15 monsters

RINGONDERZOEK IV (99-1) BACTERIOLOGISCHE DETECTIE VAN *SALMONELLA* IN KIPPENFAECES

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

Opzet van het ringonderzoek

Bacteriologisch ringonderzoek IV (99-1) wordt uitgevoerd door het Nationaal Referentie Laboratorium (NRL) voor *Salmonella* in opdracht van de Inspectie Gezondheidsbescherming Waren en Veterinaire zaken (W & V) 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 15 monsters, exclusief 2 controles, te worden onderzocht. Daartoe ontvangt iedere deelnemer een pakket met daarin:

- 15 genummerde potjes die elk één capsule bevatten;
- 3 porties met ± 10 gram ingevroren kippenfaeces.

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

Testrapport

De resultaten van het onderzoek dienen te worden vermeld in het testrapport dat tegelijkertijd met dit protocol is verstuurd. Na afloop van het onderzoek dient dit testrapport volledig ingevuld naar het NRL *Salmonella* opgestuurd te worden. 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 dient alle informatie te worden vermeld die invloed kan hebben op het eindresultaat. Afwijkingen van het protocol en andere gebeurtenissen dienen vermeld te worden. Ook dienen in het testrapport 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 middels een RIVM rapport. Daarnaast zal ieder laboratorium een uitslag ontvangen van zijn eigen resultaten.

Tijdsplanning ringonderzoek

De uitvoering van het ringonderzoek vindt plaats in week 16. De start van het onderzoek van de capsules is op maandag 19 april 1999.

- 29 maart - 2 april 1999 Verzending van protocol en testrapport naar de deelnemers.
- 7 april 1999 Verzending van de materialen naar de deelnemers.
Het pakket wordt via EMS of DHL verstuurd en wordt normaliter op **8 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 donderdag 8 april 1999 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).
- 19 - 23 april 1999 Uitvoering van het ringonderzoek volgens de procedure zoals beschreven in Bijlage 1.
- 26 - 30 april 1999 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* (alleen indien dit nog niet eerder gebeurd is) worden per post teruggestuurd naar het NRL.

17 - 21 mei 1999

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

Procedure voor bacteriologisch ringonderzoek IV (99-1)

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 19 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 (pagina 3) de gevraagde gegevens over het voorophopingsmedium.

Nummer 17 potten met voorophopingsmedia van 1 tot 15 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 15 monsters. Nadat de media en capsules op kamertemperatuur zijn gebracht wordt een capsule toegevoegd aan het voorophopingsmedium (= **225 ml BPW**) 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 (pagina 3). 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 1-5;

1 gr. uit portie 2 toevoegen aan monsters 6-10 en aan C2;

1 gr. uit portie 3 toevoegen aan monsters 11-15.

Incubeer volgens de methode van uw laboratorium. Vermeld in het testrapport (pagina 3) de incubatietemperatuur en de begin- en eindtijd van de incubatieperiode.

2. Selectieve ophoping

Vermeld in het testrapport (pagina 4 en 5) de gevraagde gegevens van de selectieve ophopingsmedia. Nummer 17 buizen/flessen van elk selectief ophopingsmedium van 1 tot 15 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 (pagina 4 en 5).

3. Isolatie

Vermeld in het testrapport (pagina 6 en 7) de gevraagde gegevens over de gebruikte isolatiemedia. Nummer 17 petrischalen van elk routinematig gebruikt isolatiemedium van 1 tot 15 voor de monsters en C1/C2 voor de controles.

Beënt en incubeer de media volgens de methode van het laboratorium. Vermeld in het testrapport (pagina 6 en 7) de temperatuur, begin- en eindtijd van de incubatieperiode.

4. Bevestiging

Vermeld in het testrapport (pagina 8) 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 9 (indien een tweede isolatie is gebruikt vermeld de resultaten dan in tabel 10) van het testrapport

TEST RAPPORT

**RINGONDERZOEK IV (99-1)
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 :

Begindatum detectie : - - 1999

Verzending

Aankomst pakket op laboratorium:

datum :..... - 1999

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

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

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 9: Resultaten van de bevestigingen van de **eerste isolatie**
(capsulenummers 1-15 + 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
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								
15								
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 10: Resultaten van de bevestigingen van de **tweede isolatie**
(capsulenummers 1-15 + 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
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								
15								
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: - - 1999

Naam van de analist die het ringonderzoek heeft uitgevoerd:

.....

handtekening:.....

Naam hoofd van de afdeling:

.....

handtekening:.....

Bijlage 3 Protocol/testrapport onderzoek 50 monsters

RINGONDERZOEK IV (99-1) BACTERIOLOGISCHE DETECTIE VAN *SALMONELLA* IN KIPPENFAECES

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

Opzet van het ringonderzoek

Bacteriologisch ringonderzoek IV (99-1) wordt uitgevoerd door het Nationaal Referentie Laboratorium (NRL) voor *Salmonella* in opdracht van de Inspectie Gezondheidsbescherming Waren en Veterinaire zaken (W & V) 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 dit protocol.

Testrapport

De resultaten van het onderzoek dienen te worden vermeld in het testrapport dat tegelijkertijd met dit protocol is verstuurd. Na afloop van het onderzoek dient dit testrapport volledig ingevuld naar het NRL *Salmonella* opgestuurd te worden. 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 dient alle informatie te worden vermeld die invloed kan hebben op het eindresultaat. Afwijkingen van het protocol en andere gebeurtenissen dienen vermeld te worden. Ook dienen in het testrapport 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 middels een RIVM rapport. Daarnaast zal ieder laboratorium een uitslag ontvangen van zijn eigen resultaten.

Tijdsplanning ringonderzoek

De uitvoering van het ringonderzoek vindt plaats in week 16. De start van het onderzoek van de capsules is op maandag 19 april 1999.

- 29 maart - 2 april 1999 Verzending van protocol en testrapport naar de deelnemers.
- 7 april 1999 Verzending van de materialen naar de deelnemers.
Het pakket wordt via EMS of DHL verstuurd en wordt normaliter op **8 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 donderdag 8 april 1999 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).
- 19 - 23 april 1999 Uitvoering van het ringonderzoek volgens de procedure zoals beschreven in Bijlage 1.
- 26 - 30 april 1999 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* (alleen indien dit nog niet eerder gebeurd is) worden per post teruggestuurd naar het NRL.
- 17 - 21 mei 1999 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

Procedure voor bacteriologisch ringonderzoek IV (99-1)

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 19 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 (pagina 3) 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 (= **225 ml BPW**) 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 (pagina 3). 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 (pagina 3) de incubatietemperatuur en de begin- en eindtijd van de incubatieperiode.

2. Selectieve ophoping

Vermeld in het testrapport (pagina 4 en 5) 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 (pagina 4 en 5).

3. Isolatie

Vermeld in het testrapport (pagina 6 en 7) 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 (pagina 6 en 7) de temperatuur, begin- en eindtijd van de incubatieperiode.

4. Bevestiging

Vermeld in het testrapport (pagina 8) 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 11 (indien een tweede isolatie is gebruikt vermeld de resultaten dan in tabel 12) van het testrapport

TEST RAPPORT

**RINGONDERZOEK IV (99-1)
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 :

Begindatum detectie : - - 1999

Verzending

Aankomst pakket op laboratorium:

datum :..... - 1999

tijd :..... u min

Pakket beschadigd JA
NEE

Koelelementen bij aankomst:

geheel ontdooid

half ontdooid

bevoren

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

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

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 11: 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 11 (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 11 (vervolg): capsulenummers 41-50 + controles

	selectief ophopingsmedium 1				selectief ophopingsmedium 2			
	eerste ^a medium		tweede ^b medium		eerste medium		tweede medium	
no.	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 12: 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 12 (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 12 (vervolg): capsulenummers 41-50 + controles

	selectief ophopingsmedium 1				selectief ophopingsmedium 2			
	eerste ^a medium		tweede ^b medium		eerste medium		tweede medium	
no.	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: - - 1999

Naam van de analist die het ringonderzoek heeft uitgevoerd:

.....

handtekening:.....

Naam hoofd van de afdeling:

.....

handtekening:.....

Bijlage 4 Gegevens over de gebruikte media

Tabel 13 Gegevens over het door de laboratoria gebruikte voorophopingsmedium BPW

labcode	fabrikant	art.nummer	ringonderzoek IV		ringonderzoek V	
			starttijd incubatie	eindtijd incubatie	starttijd incubatie	eindtijd incubatie
1	Biotrading	K168Z5000	12 u 15 m	08 u 30 m	11 u 50 m	08 u 30 m
2	Sanofi Diagn. Pasteur Oxoid	64684 CM 509	15 u 15 m	14 u 05 m	15 u 30 m	12 u 10 m
3	Merck	1.07228	nvt	nvt	15 u 34 m	10 u 56 m
4	Biotrading	K168 F500	12 u 20 m	08 u 20 m	14 u 25 m	11 u 05 m
5	Tritium	B 01.46.0225	15 u 30 m	10 u 30 m	nvt	nvt
6	Oxoid	CM 509	nvt	nvt	13 u 40 m	09 u 30 m
7	HiMedia	M 614 / 016A	15 u 55 m	10 u 15 m	10 u 30 m	08 u 30 m
8	Oxoid Sanofi Pasteur	CM 509 64684	14 u 00 m	09 u 05 m	15 u 25 m	09 u 00 m
9	Sanofi Pasteur	64684/54170	15 u 45 m	11 u 00 m	12 u 45 m	08 u 00 m
10	Tritium	B601.59.9000	16 u 35 m	09 u 00 m	16 u 50 m	09 u 00 m
11	Oxoid	CM 510	10 u 15 m	11 u 30 m	12 u 05 m	09 u 00 m
12	Oxoid	CM 509	nvt	nvt	15 u 52 m	09 u 59 m
13	Oxoid	CM 509	15 u 00 m	09 u 00 m	15 u 10 m	09 u 00 m
14	Lab M	Lab 46	14 u 05 m	10 u 05 m	14 u 45 m	10 u 30 m
15	Becton/Dickinson	4312367	11 u 15 m	08 u 45 m	10 u 15 m	10 u 15 m
16	Biotrading	K168 F225	17 u 10 m	10 u 45 m	16 u 10 m	10 u 35 m
17	Biotrading	K168 F400a	15 u 50 m	10 u 00 m	16 u 00 m	11 u 00 m
18	Oxoid	CM509	nvt	nvt	16 u 10 m	10 u 30 m
19	Biocontrol	BK018	14 u 40 m	10 u 50 m	13 u 05 m	08 u 50 m
20	Biotrading/LabM	K2077 225	11 u 13 m	10 u 13 m	14 u 00 m	11 u 50 m
21	Becton/Dickinson Difco	4312367 1810-17	15 u 02 m	09 u 32 m	15 u 37 m	09 u 58 m
22	Biokar	BK018	16 u 50 m	12 u 03 m	nvt	nvt
23	Tritium Biotrading	B601.48.1000 K168F1000pl	16 u 05 m	11 u 10 m	17 u 17 m	11 u 14 m
24	Oxoid	CM 509	11 u 20 m	07 u 30 m	11 u 35 m	07 u 40 m
25	Merck	1.07228	11 u 30 m	-	10 u 45 m	09 u 30 m
26	Biokar	BK018	-	-	nvt	nvt

nvt = niet van toepassing

Tabel 14 *Gegevens over de door laboratoria 1 -16 gebruikte selectieve ophopingsmedia in ringonderzoek IV (99-1)*

labcode	medium	Fabrikant	art. nummer	starttijd incubatie	eindtijd eerste incubatie	eindtijd tweede incubatie
1	MSRV	Oxoid	CM 910	09 u 00 m	08 u 30 m	-
	RV	Biotrading	K430B010	09 u 15 m	09 u 30 m	-
2	DIASALM	Lab M	Lab 537	14 u 45 m	13 u 00 m	13 u 35 m
	RV	Biokar	BK 136	14 u 45 m	13 u 00 m	-
4	DIASALM	eigen fabrikaat		10 u 55 m	08 u 40 m	08 u 54 m
	RV	eigen fabrikaat		10 u 55 m	08 u 40 m	08 u 54 m
5	RV	Tritium	R 150250010	10 u 30 m	09 u 30 m	-
	DIASALM	Tritium	D 100460250	10 u 30 m	10 u 00 m	-
7	MSRV	Oxoid	CM 910	11 u 35 m	10 u 00 m	-
	RV	HiMedia	M 1137	11 u 35 m	10 u 00 m	-
8	RV	Merck	00000923	09 u 30 m	09 u 05 m	-
	DIASALM	Lab M	Lab 537	09 u 30 m	09 u 05 m	-
9	RV	Sanofi P.	55777	12 u 00 m	12 u 00 m	12 u 00 m
	DIASALM	Tritium	D 100-02	12 u 00 m	12 u 00 m	12 u 00 m
10	RV	Tritium	R 150250010	09 u 15 m	08 u 30 m	-
	DIASALM	Lab M	Lab 537	09 u 15 m	08 u 30 m	-
11	RV	Oxoid	CM 669	12 u 00 m	09 u 30 m	11 u 45 m
	MSRV	Oxoid	CM 910	12 u 00 m	09 u 30 m	11 u 45 m
	DIASALM	Lab M	-	12 u 00 m	09 u 30 m	11 u 45 m
13	MSRV	Oxoid	CM 910	09 u 30 m	10 u 00 m	10 u 00 m
	RV	Biotrading	RVOX	09 u 30 m	10 u 00 m	-
14	DIASALM	Lab M	Lab 537	10 u 40 m	11 u 00 m	-
	RV ox	Biotrading	K430B010	10 u 40 m	11 u 00 m	-
15	MSRV	Oxoid	CM 910b	09 u 00 m	09 u 00 m	-
	Rappaport	Tritium	R 150250010	09 u 00 m	09 u 00 m	-
16	RV ox	Biotrading	K430 B010	11 u 00 m	08 u 40 m	-
	DIASALM	Lab M	Lab 537	11 u 00 m	08 u 45 m	-

vervolg Tabel 14

Gegevens over de door laboratoria 17-26 gebruikte selectieve ophopingsmedia in ringonderzoek IV

labcode	medium	Fabrikant	art. nummer	starttijd incubatie	eindtijd eerste incubatie	eindtijd tweede incubatie
17	RVS	Biotrading	K130 F500	10 u 30 m	10 u 30 m	10 u 30 m
	DIASALM	Biotrading	K035 F500	10 u 30 m	10 u 30 m	-
19	MSRV	Biocontrol	BK136	12 u 00 m	11 u 30 m	11 u 30 m
	DIASALM	Lab M	Lab 537	12 u 10 m	12 u 00 m	-
20	DIASALM	Lab M	Lab 537	10 u 32 m	08 u 22 m	08 u 12 m
	RV	Biotrading	K430 B010	10 u 32 m	08 u 22 m	-
21	RVS	Becton/Dick.	4356534	09 u 58 m	10 u 11 m	-
	MSRV	Becton/Dick.	1868-17	09 u 58 m	10 u 11 m	-
22	DIASALM	Lab M	Lab 537	13 u 15 m	13 u 30 m	-
23	RV	Tritium	R 150250010	11 u 35 m	11 u 50 m	-
	DIASALM	Tritium	D 100460250	11 u 35 m	11 u 50 m	-
24	MSRV	Oxoid	CM 910	08 u 10 m	07 u 30 m	-
25	RVS	Merck	107700	12 u 00 m	11 u 15 m	11 u 00 m
	DIASALM	Lab M	50565	12 u 30 m	11 u 00 m	-
26	DIASALM	Lab M	Lab 537	-	-	-

Tabel 15 Gegevens over de door de laboratoria gebruikte MSRV in ringonderzoek V

labcode	fabrikant	art. nummer	starttijd incubatie	eindtijd eerste incubatie	eindtijd tweede incubatie
1	Oxoid	CM 910	09 u 00 m	08 u 30 m	08 u 30 m
2	Oxoid	CM 910	14 u 00 m	12 u 10 m	11 u 45 m
3	Oxoid	CM 910	12 u 30 m	10 u 00 m	11 u 45 m
4	Nvt				
6	Becton/Dickinson	4354904	10 u 45 m	08 u 30 m	08 u 15 m
7	HiMedia	M 1282	10 u 00 m	08 u 00 m	08 u 00 m
8	Oxoid	CM 910	10 u 30 m	09 u 05 m	-
9	Oxoid	CM 910	08 u 30 m	08 u 30 m	08 u 30 m
10	Oxoid	CM 910	ng	ng	ng
11	Oxoid	ng	09 u 25 m	09 u 00 m	09 u 00 m
12	Lab M	Lab 150	10 u 35 m	09 u 31 m	09 u 10 m
13	Oxoid	CM 910	09 u 30 m	10 u 00 m	10 u 00 m
14	Difco (Biotrading)	D1868-17-0	10 u 50 m	10 u 55 m	10 u 20 m
15	Oxoid	CM 910	10 u 30 m	09 u 45 m	-
16	Oxoid	CM0866B	10 u 55 m	08 u 45 m	10 u 25 m
17	Biotrading	K477F500	11 u 45 m	10 u 00 m	10 u 00 m
18	Lab M	Lab150	10 u 50 m	09 u 30 m	08 u 45 m
19	Biocontrol	BK 134	09 u 15 m	11 u 00 m	11 u 00 m
20	Merck	109878	11 u 15 m	08 u 40 m	08 u 45 m
21	Difco	1868-17	10 u 22 m	10 u 04 m	10 u 12 m
23	Lab M	ng	12 u 12 m	12 u 05 m	09 u 05 m
24	Oxoid	CM 910	08 u 00 m	07 u 27 m	-
25	Merck	1.09878	13 u 00 m	11 u 00 m	13 u 00 m

ng = niet gerapporteerd

nvt = niet van toepassing

Tabel 16 Gegevens over de door laboratoria 1-15 gebruikte isolatiemedia

lab.	medium	fabrikant	art. nummer	ringonderzoek IV		ringonderzoek V	
				starttijd incubatie 1 (incubatie2)	eindtijd incubatie 1 (incubatie2)	starttijd incubatie 1 (incubatie2)	eindtijd incubatie 1 (incubatie2)
1	BGA	Biotrading Oxoid	K334P090 CM 329	10 u 00 m	09 u 00 m	10 u 00 m 10 u 00 m	09 u 30 m 09 u 30 m
	XLD	Oxoid	CM 469	nvt	nvt		
2	BGA	Sanofi P	64464	15 u 35 m	14 u 00 m	12 u 45 m	12 u 00 m
3	XLT4	Difco	0234-17	nvt	nvt	15 u 50 m (14 u 15 m)	11 u 50 m (12 u 00 m)
	BGA	Difco	1880-17	nvt	nvt	15 u 50 m (14 u 15 m)	11 u 50 m (12 u 00 m)
4	BGA	Biotrading	K334 P090	12 u 00 m (13 u 20 m)	08 u 54 m (09 u 20 m)	11 u 00 m (11 u 20 m)	11 u 00 m (10 u 55 m)
5	BPLS + novo	Tritium	B 501.02	10 u 30 m (09 u 30 m)	09 u 00 m (09 u 00 m)	nvt	nvt
6	BGA	B/D ¹	254490	nvt	nvt	11 u 30 m (13 u 15 m)	08 u 15 m (08 u 30 m)
	XLT4	Sanofi P.	63654	nvt	nvt	11 u 30 m (13 u 15 m)	08 u 15 m (08 u 30 m)
7	BGA	Hi-media	M 016A	11 u 30 m	10 u 00 m	09 u 45 m (10 u 30 m)	08 u 30 m (08 u 30 m)
8	BGA	Merck Oxoid	110747 CM 329	09 u 40 m	09 u 00 m	10 u 30 m	10 u 16 m
9	BGA	Sanofi P.	64464	13 u 00 m (13 u 00 m)	13 u 00 m (13 u 00 m)	08 u 45 m (08 u 45 m)	08 u 45 m (08 u 45 m)
	XLD	Sanofi P.	69124	13 u 00 m (13 u 00 m)	13 u 00 m (13 u 00 m)		
10	BGA	Tritium	B499.02	11 u 30 m	09 u 15 m	ng	ng
11	BGA	eigen fabriikaat		09 u 45 m (12 u 00 m)	10 u 45 m (11 u 00 m)	09 u 00 m	09 u 00 m
	XLD	Oxoid	CM 469	09 u 45 m (12 u 00 m)	10 u 45 m (11 u 00 m)		
12	XLT-agar	Difco	0234-17	nvt	nvt	10 u 55 m (11 u 05 m)	09 u 05 m (10 u 00 m)
	BGA	Oxoid	CM 329	nvt	nvt	10 u 55 m (11 u 05 m)	09 u 05 m (10 u 00 m)
13	BGA	Biotrading	-	10 u 30 m	09 u 30 m	10 u 30 m	09 u 30 m
14	BGA	Biotrading Biotrading	K008 P090 K068P098	12 u 00 m	12 u 40 m	11 u 05 m (10 u 40 m)	11 u 40 m (09 u 35 m)
15	BGA	B/D ¹	4354000/ 212097	09 u 00 m (10 u 00 m)	09 u 00 m (08 u 30 m)	10 u 00 m (10 u 00 m)	09 u 30 m (10 u 00 m)

vervolg Tabel 16

Gegevens over de door de laboratoria 16-26 gebruikte isolatiemedia

16	BGA	Biotrading	K334 P090	08 u 40 m	09 u 00 m	09 u 30 m (09 u 45 m)	08 u 40 m (08 u 35 m)
17	BGA	Biotrading	K334 P090	11 u 00 m	11 u 00 m	ng	ng
18	Rambach	Merck	107500/0002	nvt	nvt	10 u 30 m (10 u 30 m)	08 u 15 m (08 u 15 m)
	BGA	Oxoid	CM 329	nvt	nvt	10 u 00 m (10 u 15 m)	08 u 30 m (09 u 40 m)
	XLT4	Difco	0234-17	nvt	nvt	10 u 00 m (10 u 15 m)	08 u 30 m (09 u 40 m)
19	BGA	Oxoid	CM 329	13 u 00 m	13 u 15 m	12 u 00 m (12 u 30 m)	11 u 45 m (13 u 00 m)
20	BGA	Biotrading	K727 P090	09 u 26 m (10 u 38 m)	08 u 12 m (08 u 16 m)	10 u 50 m	08 u 45 m
21	BGA	B/D ¹	4354490	10 u 50 m	10 u 00 m	11 u 45 m	10 u 12 m
22	XLD	Biokar	BK058	15 u 52 m	12 u 17 m	nvt	nvt
	BGA	Biokar	BK091	15 u 52 m	12 u 17 m		
23	BGA	Tritium Biotrading	B500.02 K008P090	13 u 15 m	13 u 00 m	09 u 20 m	10 u 05 m
24	BGA	Oxoid	CM 329	09 u 45 m	07 u 35 m	09 u 50 m	07 u 30 m
25	BPLS	Merck	110747	12 u 00 m (12 u 00 m)	11 u 45 m (11 u 45 m)	13 u 00 m (14 u 00 m)	14 u 00 m (15 u 00 m)
	XLD	Merck	105287	12 u 00 m (12 u 00 m)	11 u 45 m (11 u 45 m)		
	Caso agar	Merck	105458			13 u 30 m (14 u 30 m)	14 u 30 m (15 u 30 m)
26	BGA	Tritium	B49902	-	-	nvt	nvt

¹ B/D = Becton/Dickinson

nvt = niet van toepassing

Bijlage 5 Resultaten van extra ringonderzoek Va

Zeven laboratoria scoorden tijdens roz V onvoldoende volgens de criteria van de PVE. De PVE heeft aan deze resultaten geen consequenties verbonden, maar de laboratoria de kans gegeven ervaring op te doen met het gebruik van MSRv in de vorm van een extra ringonderzoek. De opzet van dit ringonderzoek kwam overeen met het onderzoek van 15 monsters in roz V. Ook de laboratoria die in roz V 50 monsters onderzochten, ontvingen in het extra ringonderzoek 15 capsules, die in combinatie met kippenfeces onderzocht moesten worden. De resultaten zijn weergegeven in Tabel 17. Alle laboratoria isoleerden *Salmonella* uit de vijf monsters met 100 kve STM en uit de vijf monsters met 1000 kve STM. Er werd geen *Salmonella* geïsoleerd uit de blanco capsules.

Tabel 17 *Het aantal voor Salmonella positieve monsters ($n_{\text{totaal}} = 15$) geïsoleerd m.b.v. de PVE-branchemethode in het extra ringonderzoek*

lab	blanco's (n=5)	100 kve STM (n=5)	1000 kve STM (n=5)
3	0	5	5
4	0	5	5
8	0	5	5
12	0	5	5
15	0	5	5
16	0	5	5
21	0	5	5