



RIJKSINSTITUUT VOOR VOLKSGEZONDHEID EN MILIEU
NATIONAL INSTITUTE OF PUBLIC HEALTH AND THE ENVIRONMENT

RIVM rapport 285859 012
NRL *Salmonella* ringonderzoek VI/VII (2000)
voor bacteriologische detectie *Salmonella*
en pilot ringonderzoeken I/II (2000) voor
bacteriologische detectie *Campylobacter*

N. Voogt en C.Dam-Deisz

juni 2001

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.

Abstract

Collaborative studies (VI/VII) for bacteriological detection of *Salmonella* and pilot collaborative studies (I/II) for the bacteriological detection of *Campylobacter*.

In 2000 two bacteriological collaborative studies were organized among 23 laboratories participating in the Dutch national programme for the control of *Salmonella* in the poultry sector by the Dutch National Reference Laboratory (NRL) for *Salmonella*. 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. The method used in the studies was prescribed by the Product Boards for Livestock, Meat and Eggs. In this method the semi-solid medium, MSR/V, was used as the selective enrichment medium. Depending on the results from previous collaborative studies, laboratories had to test 50 or 15 capsules. Only in the first study (VI) a test with 50 capsules was done by one laboratory and *Salmonella* was detected in all *Salmonella* positive capsules. In study VI, 22 (of the 23) and in study VII, 18 (of the 21) participating laboratories isolated *Salmonella* from all 10 *Salmonella* positive capsules. Two pilot bacteriological collaborative studies on the detection methods of *Campylobacter* were also organized. The main goal of these two pilot studies was to provide the participating laboratories with experience in the detection of *Campylobacter*.

Inhoud

SAMENVATTING	4
1. INLEIDING	5
2. DEELNEMENDE LABORATORIA	6
3. MATERIAAL EN METHODEN	7
3.1 Salmonella	7
3.1.1 Bereiding referentiematerialen met <i>S. Typhimurium</i>	7
3.1.2 Bereiding van monsters met stoorflora.....	7
3.1.3 Ringonderzoeken.....	7
3.1.4 Statistische analyse van de resultaten	9
3.2 Campylobacter	9
3.2.1 Bereiding koolstofswabs	9
3.2.2 Ringonderzoeken.....	9
4. RESULTATEN	11
4.1 Salmonella	11
4.1.1 Besmettingsniveau van de referentiematerialen	11
4.1.2 Evaluatie van de uitvoering van de ringonderzoeken	11
4.1.3 Testresultaten	13
4.2 Campylobacter	15
4.2.1 Evaluatie van de uitvoering van de ringonderzoeken	15
4.2.2 Testresultaten	16
5. DISCUSSIE EN CONCLUSIE	18
LITERATUUR	20
BIJLAGE 1 VERZENDLIJST	21
BIJLAGE 2 PROTOCOL/TESTRAPPORT ONDERZOEK 15 MONSTERS	22
BIJLAGE 3 PROTOCOL/TESTRAPPORT ONDERZOEK 50 MONSTERS	37
BIJLAGE 4 TESTRAPPORT RINGONDERZOEK <i>CAMPYLOBACTER</i>	56
BIJLAGE 5 GEGEVENS OVER DE GEBRUIKTE MEDIA (<i>SALMONELLA</i>)	61
BIJLAGE 6 GEGEVENS OVER DE GEBRUIKTE MEDIA (<i>CAMPYLOBACTER</i>) ..	65

Samenvatting

In 2000 werden er in opdracht van de Keuringsdienst van Waren (KvW, voormalige Inspectie Gezondheidsbescherming, Waren en Veterinaire Zaken (Inspectie W&V)) twee bacteriologische ringonderzoeken (roz VI en VII) voor de detectie van *Salmonella* in aanwezigheid van stoorflora georganiseerd door het Nationaal Referentie Laboratorium (NRL) voor *Salmonella*. Aan de ringonderzoeken werd deelgenomen door in totaal 23 laboratoria die betrokken zijn bij het plan van aanpak *Salmonella* en *Campylobacter* in de pluimveehouderij.

Het belangrijkste doel van deze ringonderzoeken was te testen of de deelnemende laboratoria in staat waren 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 werden in beide ringonderzoeken de resultaten behaald met de door de PVE voorgeschreven branchemethode voor het aantonen van *Salmonella* in dons, feces en nekvelen afkomstig van pluimvee (1) als maatstaf gehanteerd.

Naar aanleiding van de resultaten die de deelnemende laboratoria in eerdere ringonderzoeken behaalden moesten 50 of 15 capsules onderzocht worden. In ringonderzoeken met 50 capsules moesten er 40 getest worden in combinatie met kippenfeces (vier blanco's, 18 met \pm 100 kolonie vormende eenheden (kve) *Salmonella* Typhimurium (STM) en 18 met \pm 1000 kve STM). Tien capsules (vijf met 5 kve *S. Panama* en vijf met \pm 100 kve STM) werden zonder feces onderzocht. Alleen in ringonderzoek VI moesten door één laboratorium 50 capsules worden onderzocht. Dit laboratorium isoleerde *Salmonella* uit alle *Salmonella* positieve monsters, waardoor in ringonderzoek VII ook dit laboratorium 15 capsules onderzocht hoefde te onderzoeken.

De laboratoria die 15 capsules (vijf blanco's, vijf met \pm 100 kve STM en vijf met \pm 1000 kve STM) onderzochten dienden deze allemaal te onderzoeken in combinatie met feces. In roz VI isoleerden 22 van de 23 laboratoria *Salmonella* zowel uit de vijf monsters met 100 kve STM als uit de vijf monsters met 1000 kve STM. In roz VII isoleerden 18 van de 21 deelnemende laboratoria *Salmonella* uit alle 10 *Salmonella* positieve capsules.

Daarnaast werden er voor de eerste keer pilot ringonderzoeken voor de bacteriologische detectie van *Campylobacter* georganiseerd met als doel laboratoria ervaring te laten opdoen met de detectie van *Campylobacter*. Hiervoor werden 10 swabs met de routinematig op het laboratorium gebruikte methode onderzocht op de aan- of afwezigheid van *Campylobacter*.

1. Inleiding

Het RIVM organiseert in het kader van zijn functie als Nationaal Referentie Laboratorium voor *Salmonella*, in opdracht van de Keuringsdienst van Waren (KvW, voormalige Inspectie Gezondheidsbescherming, Waren en Veterinaire Zaken (Inspectie W&V)), vanaf 1997 tweemaal per jaar een ringonderzoek voor de bacteriologische detectie van *Salmonella* in monsters kippenfeces. Het belangrijkste doel van deze ringonderzoeken is te testen of de deelnemende laboratoria in staat zijn om *Salmonella* te detecteren in aanwezigheid van stoorflora. In dit rapport worden de twee ringonderzoeken georganiseerd in 2000 beschreven (ringonderzoek VI (roz VI, voorjaar 2000) en VII (roz VII, najaar 2000)).

Deelnemende laboratoria zijn laboratoria die door de Productschappen Vee, Vlees en Eieren (PVE) een (voorlopige) erkenning hebben verkregen om bacteriologisch onderzoek van o.a. mest- en blindedarmmonsters uit te voeren in het kader van het door de PVE in 1997 opgestelde plan van aanpak, welke is gericht op het terugdringen van het aantal *Salmonella*- (en *Campylobacter*-) positieve koppels vleeskuikens. Per ringonderzoek wordt door de PVE mede op advies van de KvW 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 2000 deden er in totaal 23 laboratoria mee, waarvan 21 aan beide ringonderzoeken.

Gedurende de eerste jaren zijn er alleen ringonderzoeken voor de bacteriologische detectie van *Salmonella* in monsters kippenfeces georganiseerd. Aangezien het plan van aanpak ook gericht is op het terugdringen van het aantal *Campylobacter*-positieve koppels, werden er in 2000 tegelijkertijd met de *Salmonella* ringonderzoeken twee pilot ringonderzoeken (I en II) voor de detectie van *Campylobacter* uitgevoerd met als belangrijkste doel de laboratoria ervaring te laten opdoen met de detectie van *Campylobacter*. Aan de resultaten van het *Campylobacter* ringonderzoek werden daarom geen consequenties verbonden.

2. Deelnemende laboratoria

plaats	laboratoria	roz VI*	rozVII*
Boxmeer	Laboratorium Maasweide	x	x
's-Hertogenbosch	Alcontrol Biochem Food	x	x
Ciney (B)	C. de Prévention et de Guidance Vet.	x	x
Deventer	Gezondheidsdienst voor Dieren	x	x
Deventer	SCAL voedingsonderzoek Eurolab	x	x
Drongen (B)	Prov. lab. voor Dierenziektebestrijding	x	x
Ede	Conex laboratorium	x	x
Harderwijk	DOC NW-Veluwe	x	x
Haulerwijk	Laboratorium Heijs/De Vries	x	x
Heerenveen	Analytico Agrifood B.V.	x	x
Leek	Veterinair Pluimvee Laboratorium B.V.	x	x
Lelystad	ID	x	
Lier (B)	Prov. lab. voor Dierenziektebestrijding	x	x
Putten	Centraal laboratorium Storteboom	x	x
Ruurlo	Dierenartsenpraktijk De Achterhoek	x	x
Someren	Veterinair Centrum Someren	x	x
Torhout (B)	Prov. lab. voor Dierenziektebestrijding	x	x
Veenendaal	QA Adviesburo van Elst B.V.	x	
Veghel	Coöperatief Centraal Laboratorium	x	x
Vosselaar (B)	Lavetan	x	x
Weert	Pro Health afd S.D.L.	x	x
Wezep	Plukon Laboratorium	x	x
Wijhe	KBBL	x	x

* roz = ringonderzoek

3. Materiaal en methoden

3.1 *Salmonella*

3.1.1 Bereiding referentiematerialen met *S. Typhimurium*

In beide ringonderzoeken zijn referentiematerialen (RM) gebruikt, die bereid zijn uit met *Salmonella* Typhimurium (STM) hoog besmet melkpoeder (HCMP). De bereiding van dit HCMP is eerder beschreven door in 't Veld et al. (2). 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 is er in roz VI en VII één batch RM gebruikt met een besmettingsniveau van 100 kve STM en één batch met 1000 kve STM. Om het aantal *Salmonella* bacteriën per capsule te schatten is in minimaal 50 en 20 capsules uit de batch met respectievelijk 100 en 1000 kve STM het *Salmonella*-kiemgetal bepaald. De hiervoor gebruikte methode staat beschreven in RIVM rapport 285859003 (3). De capsules werden tot gebruik opgeslagen bij $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

3.1.2 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 KvW. Om de afwezigheid van *Salmonella* in het fecesmateriaal vast te stellen, werden vijf porties feces van 25 gram bacteriologisch onderzocht volgens de binnen het RIVM gebruikte standaardmethode in het monitoringsprogramma zoonosen bij landbouwhuisdieren (4). Uitgaande van deze *Salmonella*-negatieve feces werden fecesmonsters voor gebruik in de ringonderzoeken gereed gemaakt zoals eerder beschreven door Voogt et al. (5).

3.1.3 Ringonderzoeken

In totaal namen 23 laboratoria deel aan roz VI en/of VII (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
VI	15	22
	50	1
		23 (totaal)
VII	15	21
	50	0
		21 (totaal)

Eenentwintig laboratoria namen deel aan zowel roz VI als roz VII. Twintig van deze 21 laboratoria onderzochten in beide ringonderzoeken 15 capsules en één laboratorium onderzocht in roz VI 50 capsules en in roz VII 15. Twee laboratoria zagen na roz VI af van verdere deelname.

Onderzoek van 15 monsters (roz VI en VII)

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 ± 100 kve STM, vijf capsules bevatten ± 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 dienden te worden toegevoegd en één negatieve controle, waarbij alleen één gram feces moest worden toegevoegd.

Onderzoek van 50 monsters (roz VI)

Het laboratorium dat in roz VI 50 capsules onderzocht diende 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 10 capsules (vijf met 5 kve *Salmonella* Panama en vijf met ± 100 kve STM per capsule) moesten zonder toevoeging van feces worden getest. Ook bij het onderzoek van 50 monsters dienden 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 de bijlagen 2 en 3 zijn het protocol en het testrapport weergegeven voor het onderzoek van respectievelijk 15 en 50 monsters in roz VI. In roz VII werd een soortgelijk protocol en testrapport gebruikt voor het onderzoek van de 15 monsters. De 15 of 50 individueel genummerde capsules en drie of vijf porties bevroren feces werden 10 en zes dagen (respectievelijk roz VI en VII) 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 beide ringonderzoeken 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.

3.1.4 Statistische analyse van de resultaten

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

3.2 *Campylobacter*

3.2.1 Bereiding koolstofswabs

Voor het beënten van de koolstofswabs [PROBACT transport swab TS/5-10; Schofield-Heywood- OL10 1DS-U.K.] werden vanuit $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ reïncultures van *C. jejuni* NCTC 11351 en *C. coli* NCTC 11366 gekweekt op Bolton platen (SVM, art nr B1010a). De reïncultures werden maximaal 72 uur voor verzending opgekweekt en tot gebruik bewaard bij $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Op de dag van verzending werden de koolstofswabs beënt met *Campylobacter*. Hiervoor werd met de koolstofswab de *Campylobacter*-cultuur van een Bolton plaat gehaald en vervolgens in de transportbuis gestoken. De koolstofswabs werden tot verzending bij $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ bewaard.

3.2.2 Ringonderzoeken

Tweëntwintig van de 23 laboratoria die aan *Salmonella* ringonderzoek VI deelnamen hebben het pilot-ringonderzoek I *Campylobacter* uitgevoerd. Pilot-ringonderzoek II werd door alle 21 aan *Salmonella* ringonderzoek VII deelnemende laboratoria uitgevoerd.

In totaal dienden in elk van beide ringonderzoeken 10 koolstofswabs te worden onderzocht op *Campylobacter*. In het eerste ringonderzoek waren vijf swabs beënt met *Campylobacter* en waren er vijf blanco swabs, in het tweede ringonderzoek waren er zes met *Campylobacter* beënte swabs en vier blanco's. Deze gegevens waren bij de deelnemers niet bekend. In beide ringonderzoeken volgden de deelnemers de procedure zoals die beschreven stond in het protocol en maakten daarbij gebruik van de routinematig op het laboratorium gebruikte methode voor de detectie van *Campylobacter*, omdat er geen internationaal erkende standaardmethode voor detectie in pluimveefeces is.

Het protocol was opgenomen in het protocol voor het *Salmonella* ringonderzoek (bijlage 2 en 3). In bijlage 4 staat het testrapport voor *Campylobacter* dat tegelijkertijd met het protocol naar de deelnemers werd verstuurd. De koolstofswabs werden samen met de materialen voor het *Salmonella* ringonderzoek verzonden.

De swabs moesten na aankomst op het laboratorium zoals beschreven in het protocol, bewaard worden bij +4 °C. Er werd aan het RIVM gerapporteerd door middel van het testrapport waarin gegevens omtrent de gebruikte isolatie- en bevestigingsmedia en de eindresultaten vermeld stonden.

4. Resultaten

4.1 *Salmonella*

4.1.1 Besmettingsniveau van de referentiematerialen

Het gemiddeld aantal kve *Salmonella* per capsule en de homogeniteit van de besmetting is voor de in de ringonderzoeken 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	115	2,80
1000 kve STM	1228	1,70

4.1.2 Evaluatie van de uitvoering van de ringonderzoeken

Voorophoping

Volgens de door de PVE voorgeschreven branchemethode (1) werd gebufferd pepton water (BPW) als voorophopingsmedium gebruikt. In Tabel 11 (bijlage 5) zijn de fabrikanten en artikelnummers weergegeven. Vier laboratoria (labcode 4, 13, 15 en 18) 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 VI incubeerden 19 van de 23 laboratoria de capsules tussen 30 en 35 minuten. Laboratoria 11 en 18 losten de capsules 40 minuten op voordat de feces werd toegevoegd. Laboratorium 10 en 23 deden dat respectievelijk 38 en 45 minuten. In roz VII incubeerden 18 van de 21 laboratoria de capsules tussen de 30 en 35 minuten. Twee laboratoria (labcode 11 en 23) incubeerden, net zoals in ringonderzoek VI, meer dan 35 minuten (respectievelijk 40 en 45 minuten). Laboratorium 1 heeft de incubatietijd niet gerapporteerd.

BPW moet volgens voorschrift gedurende 16 - 20 uur bij 37 °C worden geïncubeerd. Veertien van de 23 (in roz VI) en 21 (in roz VII) laboratoria incubeerden het medium binnen de voorgeschreven tijd (zie ook Tabel 11). Zes van de overige deelnemers (labcode 1, 4, 7, 9, 18 en 20) incubeerden in beide ringonderzoeken het voorophopingsmedium langer dan de voorgeschreven 20 uur. De incubatieperiode varieerde voor deze zes laboratoria tussen 20 uur 10 minuten (labcode 19, roz VI) en 24 uur 30 minuten (labcodes 4 en 18, roz VI). Vier laboratoria (labcode 11, 12, 17 en 19) incubeerden het medium in één van de twee ringonderzoeken te lang.

Selectieve ophoping

Het semi-solid medium MSR_V wordt in de branchemethode van de PVE voorgeschreven als selectief ophopingsmedium. De door de deelnemers gebruikte MSR_V, artikelnummers en incubatietijden zijn vermeld in Tabel 12 (bijlage 5). De voorgeschreven incubatietijd is 24 ± 2 uur en voor niet-verdachte of negatieve platen nogmaals 24 ± 2 uur. In roz VI incubeerden 22 van de 23 deelnemende laboratoria binnen de voorgeschreven tijd. Laboratorium 12 incubeerde 19 uur. Twintig van de 21 aan roz VII deelnemende laboratoria incubeerden MSR_V binnen de voorgeschreven 24 ± 2 uur. Laboratorium 4 incubeerde 19 uur.

Isolatie

De fabrikanten, artikelnummers en incubatietijden van het voorgeschreven isolatiemedium BGA zijn weergegeven in Tabel 13 (bijlage 5).

In roz VI incubeerden twee laboratoria (labcode 14 en 17) de BGA korter dan de voorgeschreven tijd van 24 ± 2 uur, respectievelijk 21 uur 45 min en 20 uur 55 min. Vijf laboratoria (labcode 6, 8, 12, 20 en 23) incubeerden het isolatiemedium in roz VII korter dan voorgeschreven. De incubatietijden varieerden tussen 21 uur 25 min en 21 uur 50 min.

4.1.3 Testresultaten

4.1.3.1 Onderzoek van 15 monsters

Het aantal monsters waaruit *Salmonella* werd geïsoleerd is voor beide ringonderzoeken weergegeven in Tabel 2.

Blanco capsules (n=5)

Laboratorium 1 isoleerde in roz VI *Salmonella* uit twee van de vijf blanco capsules. Vier laboratoria (labcode 5, 6, 7 en 23) rapporteerden één blanco capsule positief voor *Salmonella*. In roz VII isoleerden geen van de deelnemende laboratoria *Salmonella* uit een blanco capsule.

100 kve STM (n=5)

Met uitzondering van één laboratorium (labcode 13, vier positieve monsters) werd door de laboratoria in roz VI uit alle vijf monsters met 100 kve STM *Salmonella* geïsoleerd. In roz VII isoleerden labcode 8 en 18 uit respectievelijk twee en drie van de vijf monsters met 100 kve STM *Salmonella*. Laboratorium 15 vond geen van de monsters met 100 kve STM positief. De resterende 18 laboratoria isoleerden *Salmonella* uit alle vijf monsters met 100 kve STM.

1000 kve STM (n=5)

De 22 laboratoria die in roz VI 15 monsters onderzochten isoleerden *Salmonella* uit alle vijf monsters met 1000 kve STM. In roz VII deden negentien van de 21 laboratoria hetzelfde. Laboratorium 8 en 15 isoleerden *Salmonella* uit respectievelijk twee en vier van de vijf monsters.

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

4.1.3.2 Onderzoek van 50 monsters

In Tabel 3 is het resultaat weergegeven van het onderzoek van 50 capsules/monsters dat in roz VI door laboratorium 11 is uitgevoerd. *Salmonella* werd geïsoleerd uit zowel de 10 capsules (vijf met 5 kve *S. Panama* en vijf met 100 kve STM) die zonder feces moesten worden onderzocht als uit de 36 monsters (18 met 100 kve STM en 18 met 1000 kve STM) onderzocht in aanwezigheid van feces. Uit de vier blanco capsules en uit de procedure - en negatieve controle werd geen *Salmonella* geïsoleerd.

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 VI en VII

labcode	blanco's (n=5)		STM 100 (n=5)		STM 1000 (n=5)	
	roz VI	roz VII	roz VI	roz VII	roz VI	roz VII
1	2	0	5	5	5	5
2	0	0	5	5	5	5
3	0	0	5	5	5	5
4	0	0	5	5	5	5
5	1	0	5	5	5	5
6	1	0	5	5	5	5
7	1	0	5	5	5	5
8	0	0	5	2	5	2
9	0	0	5	5	5	5
10	0	0	5	5	5	5
11	*	0	*	5	*	5
12	0	0	5	5	5	5
13	0	0	4	5	5	5
14	0	0	5	5	5	5
15	0	0	5	0	5	4
16	0	0	5	5	5	5
17	0	**	5	**	5	**
18	0	0	5	3	5	5
19	0	0	5	5	5	5
20	0	0	5	5	5	5
21	0	**	5	**	5	**
22	0	0	5	5	5	5
23	1	0	5	5	5	5

* deelgenomen aan ringonderzoek met 50 capsules

** niet aan ringonderzoek deelgenomen

Tabel 3 Het aantal capsules/monsters ($n_{\text{totaal}} = 50$) waaruit Salmonella is geïsoleerd met behulp van de PVE-branchemethode (met MSR_V als selectief ophopingsmedium) in ringonderzoek VI

lab	zonder feces		met feces		
	5 kve S. Pan. (n=5)	100 kve STM (n=5)	blanco's (n=4)	100 kve STM (n=18)	1000 kve STM (n=18)
11	5	5	0	18	18

4.2 *Campylobacter*

4.2.1 Evaluatie van de uitvoering van de ringonderzoeken

Isolatie

In pilot-ringonderzoek I gebruikten 21 van de 22 laboratoria CCDA en één laboratorium (labcode 11) *Campylobacter* agar base als isolatiemedium (zie Tabel 14, bijlage 6). Behalve CCDA werd door laboratorium 19 ook Karmali agar gebruikt om *Campylobacter* te isoleren.

Negentien van de in totaal 21 laboratoria gebruikten in het tweede pilot-ringonderzoek CCDA als isolatiemedium. De twee overige laboratoria gebruikten *Campylobacter* agar base (labcode 11) en een agar + bouillon (labcode 13). Naast CCDA werd door laboratorium 19 Karmali agar gebruikt en laboratorium 9 maakte naast direct uitstrijken op CCDA gebruik van een voorophoping in CCDB waarna alsnog werd uitgestreken op CCDA.

De laboratoria incubeerden de isolatiemedia bij 42 ± 1 °C, behalve laboratoria 16 en 19 die het medium in beide ringonderzoeken incubeerden bij 37 ± 1 °C. Twintig laboratoria incubeerden in beide ringonderzoeken het isolatiemedium 48 ± 4 uur en twee laboratoria incubeerden korter dan 44 uur, variërend van 39 uur 10 minuten (labcode 6, pilot I) tot 43 uur 48 minuten (labcode 15, pilot II). Bij laboratorium 5 was de incubatietijd in het eerste ringonderzoek 41 uur en in het tweede ringonderzoek 46 uur.

In Tabel 14 zijn alle isolatiemedia, fabrikanten, artikelnummers alsmede de incubatietijden vermeld.

Bevestiging

Voor de bevestiging zijn zowel biochemische-, serologische- als microscopische testen gebruikt. In Tabel 4 is een overzicht gegeven van de (combinaties van) bevestigingstesten, zoals die door de deelnemende laboratoria in beide pilot-ringonderzoeken zijn gebruikt. De exacte testen en technieken zijn vermeld in Tabel 15 (bijlage 6).

Zeventien laboratoria gebruikten een biochemische test al of niet in combinatie met andere technieken. Bij alle laboratoria maakte een oxidase test deel uit van de biochemische bevestiging. Zeven laboratoria voerden daarnaast een TSI test uit en vijf laboratoria gebruikten naast de oxidase test een katalase test voor de bevestiging.

Drie van de vier laboratoria die alleen microscopisch onderzoek uitvoerden, bevestigden *Campylobacter* door te kijken naar de morfologie en de beweeglijkheid van de bacterie. Van de 14 laboratoria die microscopische bevestiging combineerden met een biochemische - en/of serologische testen, gebruikten er zeven een kleurtechniek, drie laboratoria bekeken de morfologie / beweeglijkheid en vier voerden beide technieken uit.

Tabel 4 Overzicht van de bevestigingstesten die door de deelnemende laboratoria in de pilot ringonderzoeken voor *Campylobacter* werden gebruikt

<i>bevestigingstest</i>	<i>percentage (aantal) laboratoria</i>
biochemisch	0
serologisch	8,7 (2)
microscopisch	17,4 (4)
biochemisch + serologisch	13,0 (3)
biochemisch + microscopisch	43,5 (10)
serologisch + microscopisch	0
biochemisch + serologisch + microscopisch	17,4 (4)
TOTAAL	100 (23)

4.2.2 Testresultaten

In Tabel 5 zijn de resultaten van de twee pilot-ringonderzoeken weergegeven. Dertien van de 21 laboratoria die aan beide ringonderzoeken deelnamen isoleerden daarbij *Campylobacter* van alle met *Campylobacter* beënte swabs. Drie laboratoria (labcode 3, 17 en 21) namen aan één van beide ringonderzoeken deel en behaalden daarin een 100% score. Eén laboratorium (labcode 13) vond in pilot-roz I vier (van de vijf) en in roz II twee (van de vier) swabs positief voor *Campylobacter*. In het eerste ringonderzoek vonden drie laboratoria (labcode 7, 8 en 15) op twee van de vijf swabs *Campylobacter* en drie andere laboratoria (labcode 1, 10 en 13) op vier van de vijf. In ringonderzoek II isoleerde laboratorium 19 *Campylobacter* van drie van de vier met *Campylobacter* besmette swabs.

Tabel 5 Het aantal swabs ($n_{\text{totaal}} = 10$) waarvan door de deelnemende laboratoria *Campylobacter* is geïsoleerd met behulp van de routinematig gebruikte methode in de pilot-ringonderzoeken I en II

labcode	swab zonder <i>Campylobacter</i>		swab met <i>Campylobacter</i>	
	pilot roz I (n = 5)	pilot roz II (n = 6)	pilot roz I (n = 5)	pilot roz II (n = 4)
1	0	0	4	4
2	0	0	5	4
3	*	0	*	4
4	0	0	5	4
5	0	0	5	4
6	0	0	5	4
7	0	0	2	4
8	0	0	2	4
9 ¹	0	0	5	4
	1	0	5	4
10	0	0	4	4
11	0	0	5	4
12	0	0	5	4
13	0	0	4	2
14	0	0	5	4
15	0	0	2	4
16	0	0	5	4
17	0	*	5	*
18	0	0	4	4
19	0	0	5	3
20	0	0	5	4
21	0	*	5	*
22	0	0	5	4
23	0	0	5	4

* niet aan ringonderzoek deelgenomen

¹ twee isolatiemethoden gebruikt: met en zonder ophoping in CCDB. In pilot roz I bij ophopingsmethode *Campylobacter* geïsoleerd van blanco swab

5. Discussie en conclusie

Bij de twee 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.

In ringonderzoek VI isoleerden vijf laboratoria uit één of twee blanco capsules *Salmonella*. De geïsoleerde stammen waren door twee van deze vijf laboratoria bewaard. Deze stammen werden bij het Nationaal *Salmonella* Centrum (RIVM) getypeerd. Bij één laboratorium bleek de stam *Salmonella* serotype Enteritidis pt 1, terwijl het bij het andere laboratorium ging om het *Salmonella* serotype Typhimurium pt 505. Laatstgenoemd type kan duiden op kruisbesmetting, omdat dit type het in de referentiematerialen gebruikte type is. *Salmonella* Enteritidis pt 1 kan wijzen op mogelijke besmetting van de toegevoegde kippenfeces. De kippenfeces is afkomstig van een fokbedrijf met een *Salmonella*-negatieve status en vooraf getest op afwezigheid van *Salmonella*, maar een lichte *Salmonella* besmetting is niet 100% uit te sluiten. Aan deze twee uitslagen konden geen consequenties verbonden worden, omdat de oorzaak niet met zekerheid was vast te stellen en niet alle laboratoria de stammen bewaard hadden. Bij toekomstige ringonderzoeken moeten de geïsoleerde stammen daarom door de deelnemende laboratoria bewaard worden totdat de resultaten door het NRL *Salmonella* verwerkt zijn.

Bij de beoordeling van de resultaten in roz VI en VII was het resultaat behaald met de PVE-branchemethode bepalend. Bij het onderzoek van 15 monsters in roz VI voldeden alle deelnemende laboratoria aan de door de PVE gestelde normen. In roz VII was bij drie laboratoria het aantal *Salmonella* positieve isolaties lager dan de norm die hiervoor door de PVE is gesteld, zodat deze laboratoria in roz VIII (voorjaar 2001) 50 capsules dienen te onderzoeken.

Het laboratorium dat in roz VI voor het eerst deelnam en daarom 50 capsules moest onderzoeken, isoleerde *Salmonella* uit alle *Salmonella* positieve monsters en voldeed daarmee aan de door de PVE gehanteerde criteria, zodat in roz VII slechts 15 capsules hoefden te worden onderzocht.

In de twee pilot-ringonderzoeken die werden georganiseerd om de laboratoria ervaring te laten opdoen met de detectie van *Campylobacter* werd door ongeveer 60% van de deelnemende laboratoria gebruik gemaakt van de voorlopige referentiemethode voor de bacteriologische detectie van thermofiele *Campylobacter* spp. in mestmonsters, blindedarmmonsters en nekvellen afkomstig van vleeskuikens (6). De PVE heeft in overleg met de participerende laboratoria een protocol opgesteld met daarin een voorlopige referentiemethode, omdat er geen internationaal erkende standaardmethode voor de detectie van *Campylobacter* in pluimveefeces beschikbaar is. Het aantal laboratoria dat één of meer met *Campylobacter* beënte swabs negatief vond, daalde van zeven in het eerste ringonderzoek

naar twee in het tweede pilot-ringonderzoek. Hierdoor zal het doel en de opzet van vervolg ringonderzoeken voor de detectie van *Campylobacter* door de PVE in overleg met de KvW en de stuurgroep laboratoria Plan van Aanpak aangepast moeten worden. Het lijkt daarbij zinvol het ringonderzoek uit te voeren in de matrix die in de praktijk gebruikt wordt (feces en/of nekvellen). Binnen het ID Lelystad wordt in opdracht van de PVE momenteel gewerkt aan de ontwikkeling van een stabiele en homogene matrix die in de ringonderzoeken gebruikt zou kunnen worden.

In het voor- en najaar van 2001 worden door het NRL *Salmonella* opnieuw ringonderzoeken voor bacteriologische detectie van *Salmonella* en *Campylobacter* georganiseerd.

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. 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.
3. 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 (RIVM); 1998. Rapport 285859 003.
4. Onderzoeksplan RIVM-MGB project 003: Surveillance van *Salmonella* bij landbouwhuisdieren (dd 7-5-98, revisie nr. 2)
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 (RIVM); 1997. Report 284500 007.
6. PVE Branchemethode voor de bepaling van de aan- of afwezigheid van thermofiele *Campylobacter* spp. in mestmonsters, blindedarmmonsters en nekvellen afkomstig van vleeskuikens - Voorschrift Productschappen Vee, Vlees en Eieren (dd 06-08-98; revisie nr.1)

Bijlage 1 Verzendlijst

1-5	Keuringsdienst van Waren van het ministerie van Volksgezondheid, Welzijn en Sport	
6	Contactpersoon Keuringsdienst van Waren	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	
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 VI (2000-1) BACTERIOLOGISCHE DETECTIE VAN *SALMONELLA* IN KIPPENFECES (EN PILOT-RINGONDERZOEK *CAMPYLOBACTER*)

GEORGANISEERD DOOR HET
NATIONAAL REFERENTIE LABORATORIUM (NRL) VOOR *SALMONELLA*,
RIVM TE BILTHOVEN

Opzet van het onderzoek voor *Salmonella* detectie

Het bacteriologisch ringonderzoek VI (2000-1) wordt georganiseerd door het Nationaal Referentie Laboratorium (NRL) voor *Salmonella* in opdracht van de Inspectie Gezondheidsbescherming, Waren en Veterinaire zaken (IWV) in het kader van de aanpak van *Salmonella* in de pluimveesector. In het ringonderzoek wordt gewerkt met referentiecapsules welke al dan niet in combinatie met kippenfeces dienen te worden onderzocht op *Salmonella*. Daarbij dient gebruik gemaakt te worden van de branchemethode van de Productschappen Vee, Vlees en Eieren (PVE) voor het aantonen van *Salmonella* in dons, feces en nekvellen afkomstig van pluimvee.

Volgens opgave door het PVE dienen door uw laboratorium in totaal 15 monsters, exclusief 2 controles, te worden onderzocht. Daartoe ontvangt u een pakket met daarin:

- 15 genummerde potjes die elk één capsule bevatten;
- 3 porties met \pm 10 gram ingevroren kippenfeces.

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

Opzet van het onderzoek voor *Campylobacter* detectie

Toegevoegd is een pilot-ringonderzoek voor de detectie van *Campylobacter*. In het ringonderzoek dienen 10 koolstofswabs te worden onderzocht op *Campylobacter*. De procedure voor de uitvoering van het onderzoek is beschreven in dit protocol.

Testrapport

De resultaten van beide onderzoeken dienen te worden vermeld in de testrapporten die tegelijkertijd met dit protocol zijn verstuurd. Na afloop van het onderzoek dienen deze testrapporten volledig ingevuld naar het NRL *Salmonella* (RIVM) opgestuurd te worden. Bij het NRL zullen de resultaten worden geanalyseerd. Tevens dienen in de testrapporten alle gegevens te worden vermeld over de media die gebruikt zijn tijdens de uitvoering van het ringonderzoek. Daarnaast dienen afwijkingen van het protocol en informatie die van invloed kan zijn op het eindresultaat daarin vermeld te worden. Ook dienen in de testrapporten de namen vermeld te worden van de personen die het ringonderzoek hebben uitgevoerd en van degene die er verantwoordelijk voor is.

Rapportage

Na analyse van de resultaten zal aan ieder laboratorium een uitslagformulier worden toegestuurd met de eigen resultaten van het laboratorium. Rapportage van de overall resultaten van het ringonderzoek geschiedt aan de opdrachtgever middels een RIVM rapport.

Tijdsplanning ringonderzoek

De uitvoering van het ringonderzoek is gepland in week 15. De start van het onderzoek van de capsules dient plaats te vinden op maandag 10 april 2000.

20 - 24 maart 2000	Verzending van protocol en testrapport naar de deelnemers.
30 maart 2000	Verzending van de materialen naar de deelnemers. Het pakket wordt via EMS (in Nederland) of DHL (België) verstuurd en wordt normaliter op 31 maart 2000 voor 11.00 uur afgeleverd. Koelelementen zorgen ervoor dat de temperatuur tijdens het transport laag blijft. Na aankomst in het laboratorium moeten de materialen voor de <i>Salmonella</i> detectie direct bij -20 °C geplaatst worden. Controleer of de koelelementen nog bevroren zijn en noteer dit in het testrapport (pagina 2). De koolstofswabs voor de <i>Campylobacter</i> detectie worden bij 4°C bewaard.

Als het pakket op vrijdag 31 maart 2000 voor 14.00 uur niet op het laboratorium is aangekomen, neem dan onmiddellijk contact op met het NRL *Salmonella* (contactpersoon Nelly Voogt; telefoonnummer: 030-2744263 b.g.g. 030-2742082 of 2742661).

- 10 – 14 april 2000 Uitvoering van het ringonderzoek voor de detectie van *Salmonella* en *Campylobacter* volgens de procedure zoals beschreven in dit protocol.
- 17 – 21 april 2000 Faxen van de volledig ingevulde testrapporten naar het NRL *Salmonella*. De originele testrapporten worden per post teruggestuurd naar het NRL.
- 1 – 5 mei 2000 Controle door de deelnemers van de door het NRL *Salmonella* ingevoerde gegevens.

Als er vragen en/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. : 030-2744263 of 2742082
fax : 030-2744434

Procedure voor bacteriologisch ringonderzoek VI (2000-1)

Voor het ringonderzoek dient gebruik gemaakt te worden van de PVE-branchemethode voor het aantonen van *Salmonella* in dons, feces en nekvellen afkomstig van pluimvee (dd 03-01-2000, revisie nr:6). Vermeld in het testrapport alle gevraagde gegevens over de media die gebruikt worden tijdens het onderzoek.

Haal de ingevroren feces maandagochtend 10 april uit de vriezer en plaats deze bij 5 °C. Zet de feces 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 (=BPW).

Numer 17 potten met voorophopingsmedia van 1 tot 15 voor de capsules en 2 voor de controles. De eerste controle is een procedure controle (C1), waaraan geen capsule en geen feces wordt toegevoegd en de tweede is een negatieve controle (C2) waaraan alleen 1 gr. feces 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 225 ml BPW met hetzelfde nummer. De capsule mag niet geopend worden en ook mag het voorophopingsmedium **niet** geschud worden om de capsule sneller te laten oplossen. Vervolgens worden de media gedurende 30 minuten bebroed bij de voorgeschreven incubatietemperatuur. Vermeld de temperatuur van de stoof en de begin- en eindtijd van de incubatieperiode in het testrapport. Voeg na 30 minuten $1 \pm 0,1$ gr. ontdooide feces 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 PVE-branchemethode. Vermeld in het testrapport de temperatuur van de stoof en de begin- en eindtijd van de incubatieperiode.

2. Selectieve ophoping

Vermeld in het testrapport de gevraagde gegevens over het selectieve ophopingsmedium. Nummer 17 MSR/V platen van 1 tot 15 voor de monsters en C1/C2 voor de controles.

Beënt en incubeer het medium vanuit het corresponderende voorophopingsmedium volgens de branchemethode. Vermeld de temperatuur van de stoof, de start- en eindtijd van de incubatieperiode in het testrapport.

3. Isolatie

Vermeld in het testrapport de gevraagde gegevens over het gebruikte isolatiemedium. Nummer 17 petrischalen met BGA van 1 tot 15 voor de monsters en C1/C2 voor de controles.

Beënt en incubeer het medium volgens de PVE-branchemethode. Vermeld in het testrapport de temperatuur van de stoof, 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 in tabel 6 (indien een tweede isolatie is uitgevoerd vermeld de resultaten dan in tabel 7) van het testrapport.

Procedure voor pilot-ringonderzoek voor detectie van Campylobacter (2000-1)

1. Isolatie

Vermeld in het testrapport de gevraagde gegevens over het gebruikte isolatiemedium. Nummer 10 petrischalen van elk routinematig gebruikt isolatiemedium. Beënt en incubeer het medium volgens de methode van het laboratorium. Vermeld in het testrapport de temperatuur van de stoof, begin- en eindtijd van de incubatieperiode.

2. Bevestiging

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

Vermeld de resultaten van de *Campylobacter* detectie in tabel 10 van het testrapport.

TEST RAPPORT

**RINGONDERZOEK VI (2000-1)
BACTERIOLOGISCHE DETECTIE VAN *SALMONELLA*
IN KIPPENFECES**

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

TESTRAPPORT

Detectie van *Salmonella* in aanwezigheid van kippenfeces

Laboratoriumcode :

Laboratorium :

Begindatum detectie : - – 2000

Verzending

Aankomst pakket op laboratorium:

datum :..... - 2000

tijd :..... u min

Pakket beschadigd JA

NEE

Koelelementen bij aankomst:

geheel ontdooid

half ontdooid

bevroren

Voorophoping

Medium : **BPW**

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 : **MSRV**

Fabrikant van het medium:

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

Temperatuur medium voor beënten : °C

Hoeveelheid medium per plaat : 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 : **BGA**

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

Bevestiging

Biochemische bevestiging

Medium 1 : **ureum**

Fabrikant van het medium:

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

Medium 2 : **TSI**

Fabrikant van het medium:

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

Medium 3 : **LDC**

Fabrikant van het medium:

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

Serologische bevestiging

Welke sera zijn gebruikt?

commerciële sera

 firmanaam:

sera gemaakt in eigen laboratorium

Tabel 6: Resultaten van de bevestigingen van de **eerste isolatie**
(capsulenummers 1-15 + controles)

	MSRV	
	BGA	
no.	kol ^a	Sal ^b
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
11		
12		
13		
14		
15		
C1 ^c		
C2 ^d		

^a kol = aantal kolonies gebruikt voor bevestiging

^b Sal = aantal kolonies bevestigd als *Salmonella*

^c C1 = procedure controle

^d C2 = negatieve controle

Tabel 7: Resultaten van de bevestigingen van de **tweede isolatie**
(capsulenummers 1-15 + controles)

	MSRV	
	BGA	
no.	kol ^a	Sal ^b
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
11		
12		
13		
14		
15		
C1 ^c		
C2 ^d		

^a kol = aantal kolonies gebruikt voor bevestiging

^b Sal = aantal kolonies bevestigd als *Salmonella*

^c C1 = procedure controle

^d C2 = negatieve controle

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

datum: - - 2000

Naam van de analist die het ringonderzoek heeft uitgevoerd:

.....

handtekening:.....

Naam hoofd van de afdeling:

.....

handtekening:.....

Bijlage 3 Protocol/testrapport onderzoek 50 monsters

RINGONDERZOEK VI (2000-1) BACTERIOLOGISCHE DETECTIE VAN *SALMONELLA* IN KIPPENFECES (EN PILOT-RINGONDERZOEK *CAMPYLOBACTER*)

GEORGANISEERD DOOR HET
NATIONAAL REFERENTIE LABORATORIUM (NRL) VOOR *SALMONELLA*,
RIVM TE BILTHOVEN

Opzet van het onderzoek voor *Salmonella* detectie

Het bacteriologisch ringonderzoek VI (2000-1) wordt georganiseerd door het Nationaal Referentie Laboratorium (NRL) voor *Salmonella* in opdracht van de Inspectie Gezondheidsbescherming, Waren en Veterinaire zaken (IWV) in het kader van de aanpak van *Salmonella* in de pluimveesector. In het ringonderzoek wordt gewerkt met referentiecapsules welke al dan niet in combinatie met kippenfeces onderzocht dienen te worden op *Salmonella*. Daarbij dient gebruik gemaakt te worden van de branchemethode van de Productschappen Vee, Vlees en Eieren (PVE) voor het aantonen van *Salmonella* in dons, feces en nekvellen afkomstig van pluimvee.

Volgens opgave door het PVE dienen door uw laboratorium in totaal 50 monsters, exclusief 2 controles, te worden onderzocht. Daartoe ontvangt u een pakket met daarin:

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

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

Opzet van het onderzoek voor *Campylobacter* detectie

Toegevoegd is een pilot-ringonderzoek voor de detectie van *Campylobacter*. In het ringonderzoek dienen 10 koolstofswabs te worden onderzocht op *Campylobacter*. De procedure voor de uitvoering van het onderzoek is beschreven in dit protocol.

Testrapport

De resultaten van beide onderzoeken dienen te worden vermeld in de testrapporten die tegelijkertijd met dit protocol zijn verstuurd. Na afloop van het onderzoek dienen deze testrapporten volledig ingevuld naar het NRL *Salmonella* (RIVM) opgestuurd te worden. Bij het NRL zullen de resultaten worden geanalyseerd. Tevens dienen in de testrapporten alle gegevens te worden vermeld over de media die gebruikt zijn tijdens de uitvoering van het ringonderzoek. Daarnaast dienen afwijkingen van het protocol en informatie die van invloed kan zijn op het eindresultaat daarin vermeld te worden. Ook dienen in de testrapporten de namen vermeld te worden van de personen die het ringonderzoek hebben uitgevoerd en van degene die er verantwoordelijk voor is.

Rapportage

Na analyse van de resultaten zal aan ieder laboratorium een uitslagformulier worden toegestuurd met de eigen resultaten van het laboratorium. Rapportage van de overall resultaten van het ringonderzoek geschiedt aan de opdrachtgever middels een RIVM rapport.

Tijdsplanning ringonderzoek

De uitvoering van het ringonderzoek is gepland in week 15. De start van het onderzoek van de capsules dient plaats te vinden op maandag 10 april 2000.

20 – 24 maart 2000	Verzending van protocol en testrapport naar de deelnemers.
30 maart 2000	Verzending van de materialen naar de deelnemers. Het pakket wordt via EMS (in Nederland) of DHL (België) verstuurd en wordt normaliter op 31 maart 2000 voor 11.00 uur afgeleverd. Koelelementen zorgen ervoor dat de temperatuur tijdens het transport laag blijft. Na aankomst in het laboratorium moeten de materialen voor de <i>Salmonella</i> detectie direct bij -20 °C geplaatst worden. Controleer of de koelelementen nog bevroren zijn en noteer dit in het testrapport (pagina 2). De koolstofswabs voor de <i>Campylobacter</i> detectie worden bij 4°C bewaard.

Als het pakket op vrijdag 31 maart 2000 voor 14.00 uur niet op het laboratorium is aangekomen, neem dan onmiddellijk contact op met het NRL *Salmonella* (contactpersoon Nelly Voogt; telefoonnummer: 030-2744263 b.g.g. 030-2742082 of 2742661).

- 10 – 14 april 2000 Uitvoering van het ringonderzoek voor de detectie van *Salmonella* en *Campylobacter* volgens de procedure zoals beschreven in het protocol.
- 17 – 21 april 2000 Faxen van de volledig ingevulde testrapporten naar het NRL *Salmonella*. Het originele testrapport wordt per post teruggestuurd naar het NRL.
- 1 – 5 mei 2000 Controle door de deelnemers van de door het NRL *Salmonella* ingevoerde gegevens.

Als er vragen en/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. : 030-2744263 of 2742082
fax : 030-2744434

Procedure voor bacteriologisch onderzoek VI (2000-1)

Voor het ringonderzoek dient gebruik gemaakt te worden van de PVE-branchemethode voor het aantonen van *Salmonella* in dons, feces en nekvellen afkomstig van pluimvee (dd 03-01-2000, revisie nr:6). Vermeld in het testrapport alle gevraagde gegevens over de media die gebruikt worden tijdens het onderzoek.

Haal de ingevroren feces maandagochtend 10 april uit de vriezer en plaats deze bij 5 °C. Zet de feces 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 (=BPW).

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 feces wordt toegevoegd en de tweede is een negatieve controle (C2) waaraan alleen 1 gr. feces 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 225 ml BPW met hetzelfde nummer. De capsule mag niet geopend worden en ook mag het voorophopingsmedium **niet** geschud worden om de capsule sneller te laten oplossen. Vervolgens worden de media gedurende 30 minuten bebroed bij de voorgeschreven incubatietemperatuur. Vermeld de temperatuur van de stoof en de begin en eindtijd van de incubatieperiode in het testrapport. Voeg na 30 minuten $1 \pm 0,1$ gr. ontdooide feces 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 feces toevoegen aan monsters 41-50.**

Incubeer volgens de PVE branche-methode. Vermeld in het testrapport de temperatuur van de stoof en de begin- en eindtijd van de incubatieperiode.

2. Selectieve ophoping

Vermeld in het testrapport de gevraagde gegevens over het selectieve ophopingsmedium (= MSR/V). Nummer 52 MSR/V-platen van 1 tot 50 voor de monsters en C1/C2 voor de controles.

Beënt en incubeer het medium vanuit het corresponderende voorophopingsmedium volgens de branchemethode. Vermeld de temperatuur van de stoof, de start- en eindtijd van de incubatieperiode in het testrapport.

3. Isolatie

Vermeld in het testrapport de gevraagde gegevens over het isolatiemedium (= BGA). Nummer 52 petrischalen van 1 tot 50 voor de monsters en C1/C2 voor de controles.

Beënt en incubeer de media volgens de PVE-branchemethode van het laboratorium. Vermeld in het testrapport de temperatuur van de stoof, 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 van de eerste isolatie in tabel 8 van het testrapport. Indien een tweede isolatie is uitgevoerd vermeld de resultaten dan in tabel 9.

Procedure voor pilot- onderzoek voor detectie van Campylobacter

1. Isolatie

Vermeld in het testrapport de gevraagde gegevens over het gebruikte isolatiemedium. Nummer 10 petrischalen van elk routinematig gebruikt isolatiemedium. Beënt en incubeer het medium volgens de methode van het laboratorium. Vermeld in het testrapport de temperatuur van de stoof, begin- en eindtijd van de incubatieperiode.

2. Bevestiging

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

Vermeld de resultaten van de *Campylobacter* detectie in tabel 10 van het testrapport.

TEST RAPPORT

**RINGONDERZOEK VI (2000-1)
BACTERIOLOGISCHE DETECTIE VAN *SALMONELLA*
IN KIPPENFECES**

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

TESTRAPPORT

Detectie van *Salmonella* in aanwezigheid van kippenfeces

Laboratoriumcode :

Laboratorium :

Begindatum detectie : - – 2000

Verzending

Aankomst pakket op laboratorium:

datum :..... - 2000

tijd :..... u min

Pakket beschadigd JA
 NEE

Koelelementen bij aankomst:

- geheel ontdooid
- half ontdooid
- bevroren

Voorophoping

Medium : **BPW**

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 : **MSRV**

Fabrikant van het medium:

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

Temperatuur medium voor beënten : °C

Hoeveelheid medium per plaat : 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 : **BGA**

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

Bevestiging

Biochemische bevestiging

Medium 1 : **ureum**

Fabrikant van het medium:

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

Medium 2 : **TSI**

Fabrikant van het medium:

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

Medium 3 : **LDC**

Fabrikant van het medium:

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

Serologische bevestiging

Welke sera zijn gebruikt?

commerciële sera

 firmanaam:

sera gemaakt in eigen laboratorium

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

	MSRV	
	BGA	
no.	kol ^a	Sal ^b
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
11		
12		
13		
14		
15		
16		
17		
18		
19		
20		

^a kol = aantal kolonies gebruikt voor bevestiging

^b Sal = aantal kolonies bevestigd als *Salmonella*

Tabel 8 (vervolg): capsulenummers 21-40

	MSRV	
	BGA	
no.	kol ^a	Sal ^b
21		
22		
23		
24		
25		
26		
27		
28		
29		
30		
31		
32		
33		
34		
35		
36		
37		
38		
39		
40		

^a kol = aantal kolonies gebruikt voor bevestiging

^b Sal = aantal kolonies bevestigd als *Salmonella*

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

	MSRV	
	BGA	
no.	kol ^a	Sal ^b
41		
42		
43		
44		
45		
46		
47		
48		
49		
50		
C1 ^c		
C2 ^d		

- ^a kol = aantal kolonies gebruikt voor bevestiging
^b Sal = aantal kolonies bevestigd als *Salmonella*
^c C1 = procedure controle
^d C2 = negatieve controle

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

	MSRV	
	BGA	
no.	kol ^a	Sal ^b
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
11		
12		
13		
14		
15		
16		
17		
18		
19		
20		

^a kol = aantal kolonies gebruikt voor bevestiging

^b Sal = aantal kolonies bevestigd als *Salmonella*

Tabel 9 (vervolg): capsulenummers 21-40

	MSRV	
	BGA	
no.	kol ^a	Sal ^b
21		
22		
23		
24		
25		
26		
27		
28		
29		
30		
31		
32		
33		
34		
35		
36		
37		
38		
39		
40		

^a kol = aantal kolonies gebruikt voor bevestiging

^b Sal = aantal kolonies bevestigd als *Salmonella*

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

	MSRV	
	BGA	
no.	kol ^a	Sal ^b
41		
42		
43		
44		
45		
46		
47		
48		
49		
50		
C1 ^c		
C2 ^d		

- ^a kol = aantal kolonies gebruikt voor bevestiging
^b Sal = aantal kolonies bevestigd als *Salmonella*
^c C1 = procedure controle
^d C2 = negatieve controle

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

datum: - - 2000

Naam van de analist die het ringonderzoek heeft uitgevoerd:

.....

handtekening:.....

Naam hoofd van de afdeling:

.....

handtekening:.....

Bijlage 4 Testrapport ringonderzoek *Campylobacter*

PILOT-RINGONDERZOEK BACTERIOLOGISCHE DETECTIE VAN *CAMPYLOBACTER*

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

TESTRAPPORT

Detectie van *Campylobacter*

Laboratoriumcode :

Laboratorium :

Begindatum detectie : - – 2000

Isolatie

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 de isolatie:

- begintijd : tijd : u min.

: temperatuur stoof: °C

- eindtijd : tijd : u min.

: temperatuur stoof: °C

Bevestiging

Wijze van bevestiging: :

Gebruikt bevestigingsmedium:

- firmanaam :

- artikelnummer :

- batch nummer :

- expiratie datum :

Tabel 10: Resultaten *Campylobacter* detectie

no.	<i>Campylobacter</i> (+/-)*
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	

* geef in deze kolom weer of *Campylobacter* aan- of afwezig was op de onderzochte koolstofswab.

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

datum: - - 2000

Naam van de analist die het ringonderzoek heeft uitgevoerd:

.....

handtekening:.....

Naam hoofd van de afdeling:

.....

handtekening:.....

Bijlage 5 Gegevens over de gebruikte media (*Salmonella*)

Tabel 11 Gegevens over het door de laboratoria gebruikte voorophopingsmedium BPW

labcode	fabrikant	art.nummer	ringonderzoek VI		ringonderzoek VII	
			starttijd incubatie	eindtijd incubatie	starttijd incubatie	eindtijd incubatie
1	Sanofi P./Biorad	64684	12 u 30 m	09 u 00 m	11 u 00 m	08 u 00 m
2	Bio-rad	54170	14 u 45 m	10 u 00 m	15 u 00 m	10 u 00 m
3	Oxoid	CM 509	13 u 10 m	07 u 30 m	14 u 55 m	09 u 10 m
4	Merck Oxoid	1.07228 CM 509	11 u 30 m	12 u 00 m	16 u 15 m	13 u 00 m
5	Oxoid	CM 509	17 u 00 m	10 u 00 m	14 u 40 m	09 u 10 m
6	Oxoid	CM 509	14 u 10 m	07 u 40 m	11 u 50 m	07 u 40 m
7	Merck Merck	1.05463 1.07228	11 u 30 m	10 u 00 m	11 u 30 m	10 u 00 m
8	Becton/Dickinson	D1810-17	16 u 15 m	10 u 35 m	15 u 55 m	09 u 20 m
9	Biotrading	K168 Z5000	10 u 40 m	08 u 30 m	11 u 15 m	08 u 15 m
10	Tritium	B601.48.1000	17 u 55 m	12 u 14 m	16 u 59 m	12 u 10 m
11	Biokar	BK 018 GL	10 u 50 m	09 u 15 m	14 u 30 m	10 u 00 m
12	Oxoid	CM 509	14 u 29 m	08 u 46 m	12 u 20 m	09 u 40 m
13	Biokar HiMedia	BK 131 HA M 614	14 u 30 m	08 u 45 m	14 u 37 m	08 u 45 m
14	Biotrading	K168 F400	16 u 30 m	11 u 00 m	15 u 40 m	10 u 30 m
15	Tritium Oxoid	ng CM 509	15 u 45 m	08 u 30 m	16 u 45 m	09 u 00 m
16	Becton/Dickinson	257238	15 u 35 m	09 u 55 m	15 u 40 m	11 u 02 m
17	eigen bereiding		09 u 15 m	09 u 40 m	nvt	nvt
18	Biotrading Becton/Dickinson	K168 F400 257238	10 u 15 m	10 u 30 m	11 u 30 m	08 u 30 m
19	Biotrading	K168 Z500	15 u 50 m	12 u 00 m	14 u 30 m	10 u 30 m
20	Biotrading	K2077 225	11 u 15 m	10 u 35 m	11 u 20 m	11 u 00 m
21	Biokar	BK 018 HA	16 u 50 m	11 u 15 m	nvt	nvt
22	Lab M	Lab 46	14 u 30 m	10 u 25 m	16 u 15 m	10 u 30 m
23	Oxoid	CM 509	16 u 40 m	09 u 30 m	16 u 30 m	08 u 30 m

nvt = niet van toepassing

ng = niet gerapporteerd

Tabel 12 Gegevens over het door de laboratoria gebruikte selectieve ophopingsmedium MSRV

lab	fabrikant	art. nummer	ringonderzoek VI			ringonderzoek VII		
			starttijd incubatie	eindtijd periode 1	eindtijd periode 2	starttijd incubatie	eindtijd periode 1	eindtijd periode 2
1	Oxoid	CM 910	13 u 30	13 u 30	13 u 20	10 u 00	08 u 00	08 u 00
2	Oxoid	CM 910	10 u 30	10 u 30	10 u 45	10 u 30	10 u 30	10 u 30
3	Oxoid	CM 910	08 u 13	08 u 13	08 u 40	09 u 40	09 u 00	09 u 15
4	B/D ¹ Difco	257234 218681	13 u 50	13 u 15	14 u 00	13 u 30	08 u 40	08 u 35
5	Oxoid	00000143	11 u 10	10 u 00	10 u 30	10 u 05	10 u 00	10 u 00
6	Oxoid	CM 910	09 u 00	08 u 40	08 u 30	08 u 25	07 u 40	07 u 35
7	Merck	1.09878	11 u 30	10 u 30	11 u 00	11 u 30	10 u 30	11 u 10
8	B/D ¹	D1868-17	11 u 05	09 u 45	10 u 15	09 u 30	09 u 00	09 u 05
9	Oxoid	CM 910	09 u 00	09 u 00	10 u 00	09 u 15	09 u 00	09 u 00
10	Oxoid	CM 910	12 u 33	12 u 17	12 u 24	12 u 20	13 u 30	13 u 45
11	Biokar	BK 134	09 u 15	09 u 00	10 u 00	10 u 30	09 u 30	09 u 00
12	B/D ¹	257234	13 u 30	08 u 43	08 u 10	10 u 50	09 u 15	08 u 15
13	Himedia	M 1282	09 u 10	08 u 30	08 u 30	09 u 30	10 u 30	10 u 30
14	Biotrading Oxoid	K477 F500 CM 910	11 u 00	10 u 00	09 u 45	11 u 00	10 u 00	10 u 15
15	Oxoid	CM 910	10 u 00	10 u 15		09 u 45	09 u 45	09 u 45
16	B/D ¹	257234	10 u 35	09 u 00	08 u 30	11 u 12	09 u 15	09 u 00
17	eigen fabrikaat		10 u 10	11 u 30	10 u 40	nvt	nvt	nvt
18	Oxoid	CM 910	10 u 50	10 u 25	10 u 50	10 u 00	08 u 30	08 u 30
19	Difco	1868-17	14 u 30	14 u 00	14 u 30	11 u 00	09 u 42	09 u 12
20	Merck	1.09878	10 u 55	10 u 15	10 u 45	11 u 30	08 u 30	08 u 30
21	Biokar	BK 134	11 u 55	10 u 50	11 u 00	nvt	nvt	nvt
22	Biotrading (Difco)	D1868-17-0	10 u 50	10 u 20	10 u 20	10 u 55	11 u 00	10 u 25
23	Lab M	Lab 150	10 u 00	08 u 30	08 u 40	08 u 50	08 u 15	08 u 10

B/D = Becton/Dickinson

nvt = niet van toepassing

Tabel 13 Gegevens over het door de laboratoria gebruikte isolatiemedium, BGA

lab.	fabrikant	art. nummer	ringonderzoek VI		ringonderzoek VII	
			starttijd incubatie 1 (incubatie2)	eindtijd incubatie 1 (incubatie2)	starttijd incubatie 1 (incubatie2)	eindtijd incubatie 1 (incubatie2)
1	Sanofi P/ Biorad	64464	14 u 35 m (14 u 15 m)	14 u 30 m (14 h 00 m)	12 u 00 m	12 u 30 m
2	Bio-rad	64464	10 u 45 m (11 u 00 m)	10 u 00 m (10 u 00 m)	10 u 50 m	10 u 50 m
3	Biotrading	K008 P090	09 u 00 m (09 u 10 m)	08 u 30 m (09 u 10 m)	09 u 15 m (09 u 00 m)	08 u 40 m (09 u 30 m)
4	B/D ¹ Difco	254490 218801	14 u 00 m (14 u 30 m)	14 u 00 m (14 u 00 m)	09 u 15 m (10 u 45 m)	08 u 45 m (08 u 25 m)
5	Oxoid	01911009	11 u 30 m	09 u 30 m	11 u 00 m	09 u 30 m
6	Oxoid	CM 329	09 u 50 m	08 u 45 m	09 u 45 m	07 u 35 m
7	Merck	1.10747	11 u 15 m (11 u 30 m)	11 u 00 m (11 u 30 m)	11 u 30 m (12 u 00 m)	12 u 30 m (11 u 30 m)
8	B/D ¹	254490	10 u 40 m (08 u 55 m)	08 u 45 m (08 u 30 m)	11 u 00 m (09 u 40 m)	08 u 45 m (08 u 35 m)
9	Biotrading	K334 P090	10 u 00 m	09 u 00 m	09 u 00 m (09 u 00 m)	09 u 00 m (09 u 00 m)
10	Oxoid	PO 5033A	12 u 36 m (12 u 45 m)	12 u 25 m (12 u 27 m)	13 u 55 m (13 u 50 m)	13 u 40 m (13 u 45 m)
11	Biotrading	K008 P090	09 u 15 m (10 u 15 m)	10 u 00 m (10 u 00 m)	10 u 00 m (09 u 30 m)	09 u 00 m (09 u 45 m)
12	B/D ¹	254490	09 u 15 m (08 u 30 m)	08 u 15 m (09 u 10 m)	10 u 50 m (09 u 10 m)	08 u 15 m (09 u 00 m)
13	Himedia	M121 M016A	10 u 00 m (08 u 45 m)	08 u 30 m (09 u 15 m)	11 u 30 m (11 u 40 m)	11 u 20 m (11 u 00 m)
14	Biotrading	K334 P090	11 u 30 m (11 u 00 m)	09 u 15 m (09 u 00 m)	10 u 15 m	10 u 00 m
15	Tritium	B 499-02	11 u 00 m	10 u 00 m	10 u 00 m (10 u 15 m)	10 u 00 m (10 u 30 m)

vervolg *Tabel 13*

Gegevens over de door de laboratoria 16-26 gebruikte isolatiemedia

16	B/D ¹	254490	10 u 05 m (10 u 00 m)	08 u 30 m (09 u 05 m)	09 u 30 m (10 u 00 m)	08 u 30 m (09 u 05 m)
17	eigen		13 u 45 m (11 u 30 m)	10 u 40 m (08 u 30 m)	nvt	nvt
18	Biotrading	K334 B090	10 u 45 m (11 u 10 m)	08 u 45 m (09 u 30 m)		
	B/D ¹	254490			10 u 00 m (10 u 00 m)	08 u 30 m (09 u 30 m)
19	Biotrading	K334 B090	15 u 45 m (15 u 00 m)	14 u 00 m (14 u 30 m)	10 u 00 m (10 u 00 m)	08 u 30 m (09 u 30 m)
20	Biotrading	K727 P090	11 u 05 m (11 u 40 m)	10 u 45 m (08 u 55 m)	10 u 45 m	08 u 30 m
21	Oxoid	CM 329	11 u 10 m (11 u 10 m)	10 u 45 m (10 u 15 m)	nvt	nvt
22	Biotrading	K008P090	11 u 10 m (11 u 30 m)	11 u 20 m (11 u 10 m)	11 u 30 m (11 u 00 m)	10 u 40 m (11 u 30 m)
23	Oxoid	CM 329	09 u 30 m (09 u 20 m)	08 u 15 m (08 u 10 m)	10 u 50 m (10 u 55 m)	08 u 20 m (08 u 30 m)

¹ B/D = Becton/Dickinson

nvt = niet van toepassing

Bijlage 6 Gegevens over de gebruikte media (*Campylobacter*)

Tabel 14 Gegevens over de door de laboratoria gebruikte isolatiemediën voor *Campylobacter* in de pilot-ringonderzoeken I en II

lab	medium	fabrikant	art. nummer	pilot-ringonderzoek I		pilot-ringonderzoek II	
				starttijd incubatie	eindtijd incubatie	starttijd incubatie	eindtijd incubatie
1	CCDA	Oxoid	CM 739	13 u 00 m	12 u 30 m	11 u 00 m	08 u 00 m
2	CCDA	Tritium	C101-02	15 u 00 m	15 u 00 m	11 u 00 m	11 u 00 m
3	CCDA	BioTrading	K073 P090	-	-	15 u 20 m	15 u 15 m
4	CCDA	B / D	234403	13 u 22 m	14 u 00 m	15 u 45 m	15 u 00 m
5	CCDA	BioTrading	K073 P090	17 u 30 m	10 u 30 m	12 u 30 m	10 u 30 m
6	CCDA	Oxoid	CM 739	16 u 30 m	07 u 40 m	12 u 30 m	07 u 40 m
7	CCDA	Oxoid	CM 739	16 u 00 m	15 u 30 m	16 u 30 m	17 u 00 m
8	CCDA	B / D	254491	16 u 30 m	15 u 40 m	14 u 30 m	16 u 30 m
9	CCDB→CCDA CCDA	Oxoid (CCDB) BioTrading	CM 963 K073 P090	14 u 00 m	10 u 00 m	13 u 30 m 11 u 45 m	11 u 30 m 10 u 15 m
10	CCDA	Oxoid	PO 5091A	17 u 50 m	18 u 14 m	17 u 20 m	17 u 30 m
11	Camp. agar base	Oxoid	CM 689	10 u 45 m	09 u 00 m	14 u 45 m	12 u 00 m
12	CCDA	Oxoid	PO 5091A	11 u 55 m	10 u 10 m	10 u 10 m	08 u 30 m
13	CCDA agar + bouillon	Oxoid Hi Media	CM 739 M887+1318	12 u 15 m	13 u 00 m	16 u 00 m 16 u 00 m	12 u 00 m 15 u 30 m
14	CCDA	BioTrading	K073 P090	16 u 00 m	15 u 30 m	08 u 55 m	09 u 00 m
15	CCDA	Tritium	C101-02	17 u 05 m	11 u 00 m	16 u 20 m	12 u 08 m
16	CCDA	Lab M	Lab 112	09 u 50 m	08 u 15 m	14 u 36 m	09 u 00 m
17	CCDA	Oxoid	ng	08 u 00 m	10 u 25 m	-	-
18	CCDA	BioTrading Oxoid	K073 P090 CM 739	09 u 30 m	09 u 00 m	10 u 30 m	11 u 00 m
19	CCDA Karmali	BioTrading BioTrading	K073 P090 K241 P090	16 u 00 m	14 u 00 m	11 u 00 m	09 u 00 m
20	CCDA	Oxoid	CM 739	11 u 20 m	10 u 15 m	14 u 40 m	11 u 50 m
21	CCDA	Oxoid	CM 739	16 u 10 m	13 u 00 m	-	-
22	CCDA	BioTrading	K073 P090	11 u 15 m	11 u 10 m	14 u 35 m	14 u 35 m
23	CCDA	Oxoid	CM 739	10 u 00 m	08 u 30 m	10 u 27 m	10 u 50 m
24	Bolton	SVM	B 101 02	12 u 10 m	09 u 30 m	13 u 55 m	09 u 00 m

Tabel 15 Bevestigingsmedia / testen voor Campylobacter gebruikt door de deelnemende laboratoria in de pilot-ringonderzoeken I en II

		biochemische			testen		microscopische	
lab	pilot roz	TSI	oxidase	kata.		levende bacteriën	gekleurde preparaten	
1	I	x					gram	
	II		x				gram	
2	I + II	x	x		meritec			
3	II					bew / mor		
4	I + II				camp test			
5	I		x				halve gram ph contr	
	II		x				halve gram	
6	I + II					visueel		
7	I + II		x		camp test			
8	I + II		x				gram	
9	I + II						oi inkt	
10	I + II		x			microsc.		
11	I + II	x	x				gram (KOH)	
12	I + II	x	x			bew	gram	
13	I + II		x			microsc.		
14	I + II				meritec			
15	I		x			microsc.	gram	
	II		x		INDX camp	bew / mor	gram	
16	I + II	x	x	x		bew	gram	
17	I					bew / mor		
18	I				camp test			
	II		x	x	camp test			
19	I		x	x	INDX camp		gram (vorm)	
	II		x	x	microscreen		gram	
20	I + II	x	x			microsc.		
21	I	x	x	x		bew	gram	
22	I + II		x		microscreen		gram	
23	I + II		x		camp test		kleuring	

biochemisch:

kata.

katalase

serologisch:

camp test

Oxoid (DR 0150 m): Campylobacter test kit

meritec

Meridiam (Biotrading; art nr M203050)

INDX camp

Integrated Diagnostics (Biotrading; art nr 2200-01-50)

microscreen

Microgen (Biotrading; art nr MBF46)

microscopisch:

bew

beweeglijkheid

mor

morfologie

ph contr

phase contrast

oi inkt

oost-indisch inkt preparaat

microsc.

microscopisch (geen verdere techniek vermeld)