



Eindrapport

Niets uit deze rapportage mag gekopieerd of vermenigvuldigd worden zonder toestemming van GD

Zijn ganzen een relevante bron van salmonella besmettingen op melkveebedrijven?

Gesubsidieerd door:
Interne opdrachtgever:
Projectleider:
Auteurs:
Versie:
Datum:
Projectnummer:

Productschap Zuivel & Faunafonds
dr. ir. A.G.J. Velthuis
ing. J.W. ten Wolhuis-Bronsvort
dr. M.F. Weber, dr. ir. A.E. Heuvelink
2
7 november 2013
1080150



Inhoudsopgave

Eindrapport

1.	SAMENVATTING	2
2.	INLEIDING	4
3.	MATERIAAL EN METHODEN	5
4.	RESULTATEN	8
5.	DISCUSSIE	15
6.	CONCLUSIE EN AANBEVELINGEN	16
7.	DANKWOORD.....	17
8.	LITERATUUR.....	18

1. Samenvatting

In Nederland worden regelmatig groepen overzomerende ganzen gezien op grasland van melkveebedrijven met een *Salmonella enterica* subsp. *enterica* infectie. De vraag kan worden gesteld, of deze ganzen een rol spelen in de verspreiding van salmonella-infecties bij rundvee. Op basis van de wetenschappelijke literatuur kan dit niet geheel worden uitgesloten. De doelstelling van dit onderzoek was daarom vast te stellen wat de prevalentie van *Salmonella* spp. in faeces van overzomerende ganzen op persistent geïnfecteerde melkveebedrijven is, en vast te stellen in welke mate de salmonella-typen die in deze ganzenfaeces aan worden getroffen overeenkomen met de salmonella-typen in runderfaeces van deze bedrijven.

De studie werd gericht op overzomerende ganzen (i.e. ganzen die in de weideperiode in Nederland verblijven) omdat de kans op infectieuze contacten van ganzen met runderfaeces en van runderen met ganzenfaeces waarschijnlijk groter is bij overzomerende ganzen dan bij overwinterende ganzen. Deelnemende bedrijven werden geselecteerd aan de hand van strenge criteria om de kans op het vinden van een overeenkomst tussen salmonella-typen in ganzenfaeces en runderfaeces, als deze er in werkelijkheid zou zijn, te vergroten.

Op 25 melkveebedrijven met een chronische salmonella-infectie (i.e., >1 jaar afweerstoffen tegen salmonella aangetoond in tankmelk) werden per bedrijf 100 verse ganzenfaecesmonsters verzameld en gekweekt in pools van 10 monsters volgens een kruispoolingssysteem. Tevens werden poolmonsters uit de mestopslagen van de melkveebedrijven gekweekt en werd een tankmelkmonster van het bedrijf onderzocht op afweerstoffen tegen salmonella en afweerstoffen tegen leverbot. Met een enquête werden de bedrijfsvoering en mogelijke contacten van rundvee met ganzenfaeces en van ganzen met runderfaeces geïnventariseerd.

Uit de afgenomen enquête bleek dat op tenminste 16 bedrijven in de laatste drie weken voorafgaande aan het bedrijfsbezoek rundermest was gebracht, door beweiding of uitrijden van mest, op de percelen waar ganzenfaecesmonsters werden verzameld. Ook bleek dat op alle bedrijven in de 12 maanden voor het bedrijfsbezoek runderen werden geweid op percelen waar tegelijkertijd of in de voorgaande zes weken ganzen waren waargenomen. Op drie bedrijven werd tevens zomerstalvoeding toegepast waarbij ook vers gras werd gevoerd van percelen waarin de voorgaande zes weken ganzen werden waargenomen. Infectieuze contacten van runderen met ganzenfaeces waren daarom in potentie op de deelnemende bedrijven aanwezig. Op een deel van de bedrijven werden tevens andere bekende risicofactoren voor de insleep van *Salmonella* spp. vastgesteld. Op 13 van de 25 bedrijven waren in het jaar voorafgaande aan het bedrijfsbezoek runderen aangevoerd van andere bedrijven. Runder- en/of varkensmest werd in die periode aangevoerd op tien bedrijven. Ook bekende risicofactoren voor de verspreiding en persistentie van een *Salmonella* spp. infectie binnen een bedrijf werden gerapporteerd.

In de poolmonsters van de mestopslagen van 11 bedrijven werden *Salmonella* spp. aangetoond (*S. Dublin* op 10 bedrijven, *S. Typhimurium* op één bedrijf). In de gelijktijdig genomen tankmelkmonsters werden op 15 van de 25 bedrijven afweerstoffen tegen salmonella aangetoond en op 18 van de 25 bedrijven werden in dit tankmelkmonster afweerstoffen tegen leverbot aangetoond.

Uit één poolmonster van ganzenfaeces van één melkveebedrijf (waarbij sinds zomer 2010 gedurende twee jaar, ieder trimester afweerstoffen tegen salmonella in de tankmelk werden aangetoond) werd *S. Typhimurium* geïsoleerd. Op basis van dit resultaat werd de prevalentie van ganzenkeutels met een concentratie salmonellabacteriën boven de detectielimiet (i.e. 2 kve per gram voor *S. Typhimurium* en 20 kve per gram voor *S. Dublin*) geschat op 0,04% (95% CI: 0,001%, 0,22%). Uit monsters van de mestopslagen op het betreffende bedrijf werd géén *Salmonella* spp. geïsoleerd. In het gelijktijdig op dit bedrijf verzamelde tankmelkmonster en drie daaropvolgende regulier viermaandelijks tankmelkmonsters van dit bedrijf werden geen afweerstoffen tegen salmonella meer aangetoond.

Geconcludeerd wordt dat *S. Typhimurium* is aangetoond in ganzenfaeces, maar dat de prevalentie van *Salmonella* spp. in ganzenfaeces op grasland op langdurig besmette melkveebedrijven laag is. De huidige studie levert géén aanwijzingen op voor een rol van salmonella-infecties bij ganzen in het persisteren van salmonella-infecties op chronische geïnfecteerde melkveebedrijven.



2. Inleiding

Salmonella enterica subsp. *enterica*¹ infecties op melkveebedrijven zijn belangrijk door hun effect op de diergezondheid en welzijn, de bedrijfseconomische schade en risico's voor de volksgezondheid. Daarom hebben de Nederlandse zuivelondernemingen het initiatief genomen om de beheersing van salmonella op melkveebedrijven te stimuleren. Hiertoe wordt eenmaal per trimester een tankmelkmonster van elk melkveebedrijf getest op afweerstoffen tegen de salmonella serogroepen B en D en worden melkveehouders met langdurig geïnfecteerde bedrijven gestimuleerd om preventieve maatregelen in de bedrijfsvoering te treffen en salmonelladragers op te sporen en af te voeren.

In 2011 werden bij gemiddeld 7,6% van de Nederlandse melkveebedrijven afweerstoffen tegen de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serogroepen B en D in tankmelk aangetoond (Weber et al., 2013). Als risicofactoren voor salmonella-infecties werden onder meer de grondsoorten klei, zavel en veen (in vergelijking met zand) en meer dan 2% oppervlaktewater in het viercijferige postcodegebied beschreven (Weber et al., 2010; Weber et al., 2013).

In Nederland gaat de aanwezigheid van veel oppervlaktewater in de nabijheid van grasland op klei, zavel of veen regelmatig samen met de aanwezigheid van overzomerende ganzen. Grasland bij open water maakt het volwassen ganzen gedurende de ruiperiode en jonge ganzen mogelijk om zowel te foerageren als te vluchten voor predatoren (Klok et al., 2013). Overzomerende ganzen foerageren en defaeceren frequent op weilanden van melkveebedrijven. De populatie overzomerende ganzen is in de afgelopen decennia sterk toegenomen van een geschatte 200 broedparen in 1970 tot een geschatte 53.000 broedparen in 2008 (Voslamber et al., 2008). In juli 2009 werden 281.380 overzomerende ganzen geteld (de Boer and Voslamber, 2010).

Over een mogelijke rol van ganzen in de epidemiologie van salmonella-infecties bij rundvee zijn slechts beperkte gegevens bekend. In Engeland, Alberta (Canada), Nederland en Zweden werden *Salmonella* spp. geïsoleerd uit respectievelijk 30 van 101, acht van 80, één van 120, en geen enkele van 105 faecesmonsters van wilde ganzen (Feare et al., 1999; Wahlstrom et al., 2003; Heuvelink et al., 2008; Jokinen et al., 2011). Runderen kunnen daarom blootgesteld worden aan *Salmonella* spp. uit ganzenfaeces op grasland. Contacten van wilde ganzen met rundvee of veevoer zijn beschreven als risicofactor voor klinische salmonellose in een studie uit Virginia in de Verenigde Staten (Warnick et al., 2001). De aanwezigheid van wilde ganzen was echter niet geassocieerd met de uitscheiding van *Salmonella* spp. door melkvee in een studie in verscheidene Amerikaanse staten (Fossler et al., 2005). Bovendien is de rol van blootstelling van runderen aan faeces van ganzen op weiden onder Nederlandse bedrijfsomstandigheden onbekend. Daarom werd in de huidige studie de prevalentie van *Salmonella* spp. in faecesmonsters van overzomerende ganzen bestudeerd. De studie werd gericht op overzomerende ganzen omdat de kans op infectieuze contacten van ganzen met runderfaeces en van runderen met ganzenfaeces waarschijnlijk groter is bij overzomerende ganzen dan bij migrerende ganzen die uitsluitend in het stalseizoen in Nederland overwinteren. Om een vergelijking mogelijk te maken tussen salmonella-isolaten uit ganzenfaeces en de salmonella-isolaten die bij melkvee op hetzelfde bedrijf vóórkomen, werd deze studie uitgevoerd op melkveebedrijven met een persisterende salmonella-infectie.

¹ Salmonellabacteriën worden ingedeeld in soorten (species, afgekort als spp.) en ondersoorten (subspecies, afgekort als subsp.). Salmonellabacteriën die bij runderen tot relevante infecties leiden behoren allen tot de ondersoort *Salmonella enterica* subspecies *enterica*. Deze ondersoort kan verder worden onderverdeeld in serotypen, bijvoorbeeld *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Typhimurium (afgekort als S. Typhimurium) en *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Dublin (afgekort als S. Dublin). Salmonella serotypen worden gegroepeerd in zes serogroepen, A tot en met F. Bij het rund zijn in Nederland vooral de serogroepen B (waaronder S. Typhimurium) en D (waaronder S. Dublin) van belang.

3. Materiaal en Methoden

Bedrijven

Vijfentwintig Nederlandse melkveebedrijven werden bezocht tussen 4 juli en 30 oktober 2012 (16 bedrijven) of tussen 26 juni en 14 augustus 2013 (9 bedrijven). De studie werd uitgevoerd in de weideperiode, omdat in de weideperiode intensiever contact tussen ganzen en rundermest en tussen runderen en ganzenmest mag worden aangenomen dan in de stalperiode. Oorspronkelijk was het de intentie om 25 bedrijven in 2012 te bezoeken. Dit kon echter niet worden bereikt omdat in dat jaar onvoldoende bedrijven konden worden gerekruteerd die voldeden aan alle selectiecriteria. Daarom werd de studie verlengd in 2013.

Deelnemende bedrijven werden geselecteerd aan de hand van strenge criteria om de kans op het vinden van een overeenkomst tussen salmonella-typen in ganzenfaeces en runderfaeces, als deze er in werkelijkheid zou zijn, te vergroten. Selectiecriteria voor deelnemende bedrijven waren (i) tenminste 100 overzomerende ganzen geteld binnen een straal van 5 km van het bedrijf in juli 2009 (de Boer and Voslamber, 2010) en / of het bedrijf had een schadevergoeding gekregen van het Faunafonds voor een schade van $\geq$ € 100 door ganzen op grasland in de maanden juni – september van één van de jaren 2009-2011 (Faunafonds, 2012), (ii) tenminste 40 volwassen ($\geq$ 2 jaar) runderen, (iii) opeenvolgende positieve uitslagen van de laatste vier viermaandelijke tankmelkonderzoeken op afweerstoffen tegen *Salmonella* serogroepen B en D, (iv) melkvee gehuisvest in een ligboxenstal, (v) melkvee wordt geweid gedurende tenminste 6 uur per dag gedurende tenminste 120 dagen per jaar en/of zomerstalvoeding gedurende tenminste 120 dagen per jaar, (vi) bereidheid van de veehouder om deel te nemen aan het onderzoek, (vii) de aanwezigheid van tenminste 100 ganzen op grasland met een oppervlakte van in totaal niet meer dan 1 ha op de dag van het bedrijfsbezoek.

Naar veehouders met melkveebedrijven die voldeden aan de eerste drie selectiecriteria werd een wervingsbrief gezonden door hun zuivelonderneming met het verzoek om contact op te nemen met de Gezondheidsdienst voor Dieren als het bedrijf aan alle selectiecriteria voldeed. De wervingsbrief werd verspreid in de tijd verstuurd om te bevorderen dat de bedrijfsbezoeken gespreid over het weideseizoen zouden kunnen worden afgelegd. De wervingsbrief werd naar vijf groepen veehouders gestuurd, in juni 2012 (102 bedrijven), juli 2012 (95 bedrijven), september 2012 (14 bedrijven), mei 2013 (97 bedrijven) en juni 2013 (75 bedrijven). Bedrijven die in juni 2012 voldeden aan de eerste drie selectiecriteria werden *at random* toegewezen aan de eerste en tweede groep. De derde groep bestond uit bedrijven die in september 2012 voldeden aan deze criteria, maar dat in juni 2012 nog niet hadden gedaan. Bedrijven die in mei 2013 voldeden aan de eerste drie selectiecriteria werden *at random* toegewezen aan de vierde en vijfde groep. Na ongeveer twee maanden werd een herinneringsbrief gestuurd naar die veehouders die tot dan toe niet gereageerd hadden, met uitzondering van de derde groep (14 bedrijven).

Veehouders die zich bereid verklaarden om mee te doen aan het onderzoek werden benaderd door de studiecoördinatoren om zich er van te vergewissen dat het bedrijf aan alle selectiecriteria voldeed en om een voorlopige datum voor een bedrijfsbezoek te plannen. Kort voor het voorgenomen bedrijfsbezoek werd bij de veehouder nagegaan of er voldoende ganzen aanwezig waren op de weilanden.

Bedrijfsbezoek en monstername

Elk melkveebedrijf werd bezocht door één van vier medewerkers van de Gezondheidsdienst voor Dieren. De bedrijfsbezoeken werden uitgevoerd volgens een protocol dat tevoren was uitgetest, in een vaste volgorde van de verscheidene onderdelen. Om een consistente uitvoering van het protocol door ieder van de medewerkers te bevorderen werd de uitvoering van de verscheidene onderdelen getraind tijdens een gemeenschappelijk bedrijfsbezoek. Om een adequate herkenning



van de verschillende soorten ganzen te verzekeren, werden de medewerkers door een boswachter van Staatsbosbeheer getraind in het herkennen van ganzen.

Bij elk bedrijfsbezoek werden de volgende onderdelen uitgevoerd:

- Ten eerste werd een tankmelkmonster verzameld.
- Ten tweede werden 100 verse ganzenmestmonsters verzameld in individuele monsterpotjes vanaf weilanden waar ganzen aanwezig waren tijdens het bedrijfsbezoek of eerder op dezelfde dag aanwezig waren geweest. De voorkeur werd gegeven aan percelen met ganzen tijdens het bedrijfsbezoek. Er werd naar gestreefd om per monster tenminste 5 gram faeces te verzamelen. Bij het verzamelen van monsters werd de voorkeur gegeven aan caecale mestmonsters (i.e. mest uit de blinde darm), ook als dit resulteerde in een lager monstergewicht. In caecale mestmonsters worden waarschijnlijk vaker salmonella-bacteriën uitgescheiden, omdat uit onderzoek bij pluimvee bekend is dat het caecum (de blinde darm) de voornaamste kolonisatieplaats voor salmonellabacteriën is (Barrow et al., 1988). Omdat slechts een klein deel van de ganzenkeutels bestaat uit caecale mest, kon de monsterverzameling niet tot caecale monsters worden beperkt. Voor elk perceel waar ganzenmestmonsters werden verzameld, werd aan de veehouder een schatting gevraagd van het maximum aantal ganzen wat gedurende de voorgaande 24 uur op dat perceel aanwezig was geweest. Als bij het naderen van het perceel ganzen aanwezig waren, werd het aantal ganzen van elke ganzensoort geschat door de GD-medewerker. Op elk perceel werden de geografische coördinaten van de hoekpunten van het gebied waar monsters werden verzameld geregistreerd met GPS apparatuur.
- Ten derde werden, na het grondig reinigen en desinfecteren van de laarzen van de GD-medewerker, tien mestmonsters verzameld van alle mestopslagen (zoals mestputten en silo's) met een maximum van vier. Als meer dan vier mestopslagen op het bedrijf aanwezig waren, werd de voorkeur gegeven aan opslagen waarin verse mest werd afgezet tijdens het bedrijfsbezoek. Als meer dan vier mestopslagen met verse mest aanwezig waren, dan werd de voorkeur gegeven aan het verzamelen van monsters uit die opslagen waarin de verse mest van de droge koeien (close-up groep), verse koeien, koeien aan het einde van de lactatie en het drachtige jongvee terecht kwam. Hier werd voor gekozen omdat salmonella-infecties, en daarmee uitscheiding van salmonellabacteriën in faeces, op veel bedrijven rondom het afkalven optreden.
- Ten vierde werd een enquête ingevuld om de volgende onderdelen in kaart te brengen: (i) het uitrijden van mest en beweiden van de percelen waarop ganzenmestmonsters waren verzameld, (ii) de diergroepen waar mest van werd opgeslagen in de bemonsterde mestopslagen, (iii) klinische verschijnselen van salmonellose bij het rundvee, (iv) beweiding en zomerstalvoeding, en (v) bekende risicofactoren voor de insleep en versleep van salmonella op het bedrijf.
- Tot slot werd toestemming van de veehouder gevraagd om alle verzamelde monsters volgens het studieprotocol te onderzoeken en alle tankmelkuitslagen sinds 2008 op te vragen.
- Alle monsters werden gekoeld bewaard en binnen 28 uur getransporteerd naar het GD laboratorium.



Laboratoriumonderzoek

Alle tankmelkmonsters werden getest op afweerstoffen tegen *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serogroepen B en D met de GD ELISA. Monsters met een S/P ratio $\geq 0,39$ werden als positief beschouwd. Tankmelkmonsters die tijdens het bedrijfsbezoek waren verzameld, werden tevens onderzocht op afweerstoffen tegen leverbot omdat een chronische leverbotinfectie invloed heeft op de gevoeligheid van runderen voor salmonella (Frik, 1969; Hall et al., 1981).

Alle mestmonsters werden verwerkt binnen 34 uur na het verzamelen van de monsters, om de kans op het kweken van eventueel aanwezige salmonellabacteriën te vergroten. Om kosten te besparen werden de faecesmonsters gepoold volgens een kruispoolingssysteem. Hiertoe werden de 100 mestmonsters geplaatst in een raster van 10 rijen en 10 kolommen, vergelijkbaar met een dambord. Van elke rij en van elke kolom werd een poolmonster samengesteld uit 2,5 gram van elk van de 10 individuele monsters. Zo werden in totaal 20 poolmonsters bereid en gekweekt per bedrijf. Rundermest werd eveneens gepoold; per mestopslag werd een poolmonster van 25 gram bereid dat 2,5 gram van ieder van de 10 monsters uit die opslag bevatte.

Elk poolmonster werd gekweekt volgens de internationale standaard ISO 6579 annex D (Anon, 2007) met als selectieve platen zowel xylose lysine deoxycholate agar als brilliant groen agar met novobiocine. De identiteit van vermoedelijke salmonellakolonies werd bevestigd door seroagglutinaties met polyvalent serum A-E, gevolgd door biochemische confirmatie op TSI, ureum, LDC en SIM. Voor elk poolmonster werden vermoedelijke kolonies getest totdat tenminste twee positieve resultaten waren verkregen. Beide salmonella-isolaten werden geserotypeerd volgens het Kauffman-White schema (Guibourdenche et al., 2010).

Detectielimiet van de kweekmethode

Om de detectielimiet vast te stellen van de kweekmethode die werd gebruikt voor de isolatie van salmonellabacteriën uit ganzenfaeces werd een kunstmatig besmettingsexperiment met salmonella-isolaten uit runderfaeces uitgevoerd. De detectielimiet is gedefinieerd als het laagste besmettingsniveau waarbij in tenminste 50% van de monsters salmonellabacteriën worden aangetoond. Hiertoe werden verse faecesmonsters van vrijlevende boerenganzen (*Anser anser forma domesticus*), gemengd en gehomogeniseerd en gekweekt volgens de bovenbeschreven methode, om een natuurlijk besmetting met *Salmonella* spp. uit te sluiten. Eén *Salmonella* Typhimurium en vier *Salmonella* Dublin isolaten uit rundermest werden vers opgekweekt op schapenbloedagarplaten en overnacht bebroed bij 37°C. Meerdere *Salmonella* Dublin isolaten werden gebruikt omdat *Salmonella* Dublin veel voorkomt in de Nederlandse waterrijke gebieden, en slechts incidenteel is gekweekt uit ganzenfaeces. Het was daarom belangrijk specifiek na te gaan of het wel mogelijk is *S. Dublin* te kweken, als deze in ganzenfaeces aanwezig is.

De volgende dag werden de bacteriën gesuspenderd in 0,1% pepton water bij een dichtheid van 0,5 McFarland en in een 1:10 verdunningsreeks verdund in 0,1% pepton water tot 10^{-8} . Porties van 25 gram gepoolde en gehomogeniseerde ganzenmest, die kweeknegatief voor *Salmonella* spp. was, werden geïnoculeerd met 0,5 ml van de 10^{-8} verdunning, 0,5 en 1 ml van zowel de 10^{-7} als de 10^{-6} verdunning, en 0,5 ml van de 10^{-5} verdunning van elk isolaat. Het experiment werd in triplo uitgevoerd. De werkelijke concentraties bacteriën in het inoculum werden in duplo bepaald door tellingen op schapenbloedagarplaten. De geïnoculeerde faecesmonsters werden geïncubeerd met 225 ml gebufferd pepton water en verder onderzocht op de aanwezigheid van *Salmonella* spp. volgens ISO 6579:2002/Amd 1:2007 - Annex D, met Brilliant Groen Agar met novobiocine (1 mg/L; Oxoid) als tweede selectieve isolatiemedium. Isolaten waarvan met polyvalente serotypering en biochemische karakterisering was aangetoond dat het *Salmonella* spp. betrof, werden geserotypeerd volgens het Kauffmann-White schema (Guibourdenche et al., 2010).

Onderscheidend vermogen van de studie

De grootte van de studie werd zo gekozen dat bij onderzoek van 100 monsters per bedrijf op 25 bedrijven de kans tenminste 90% is dat salmonella wordt gekweekt indien in werkelijkheid tenminste 3,4% van de monsters op tenminste 10% van de bedrijven een concentratie salmonellabacteriën boven de detectielimiet van de kweek bevat.



4. Resultaten

Detectielimiet van de kweekmethode

De detectielimiet van het *S. Typhimurium* isolaat van runderen in gepoolde ganzenfaeces was 5 kve (kolonie vormende eenheden) per 25 gram faeces; twee van de drie kunstmatig besmette monsters met 5 kve per 25 g faeces waren positief (i.e. >50%) en alle drie de monsters besmet met 0,5 kve per 25 g waren negatief (Tabel 1). Omdat ganzenmestmonsters in dit onderzoek 1:10 worden gepoold, ligt de limiet voor detectie van *S. Typhimurium* in één individueel ganzenfaecesmonster in een overig salmonella-vrije pool op 5 kve per 2,5 gram, dus 2 kve per gram.

Voor *S. Dublin* werd de detectielimiet in gepoolde ganzenfaeces op 50 kve per 25 gram vastgesteld; acht van de 12 monsters waren positief (i.e. >50%; Tabel 1). Drie van de vier *S. Dublin* stammen werden ook bij lagere concentraties gedetecteerd, maar bij één van de stammen werd alleen *Salmonella* gekweekt uit monsters die met de hoogste concentratie waren besmet, ca. 500 kve per 25 g (>50%). Dit is waarschijnlijk een stam effect, aangezien eerdere experimenten met deze stam ook in een hogere detectielimiet dan andere stammen resulteerden. Omdat ganzenmestmonsters in dit onderzoek 1:10 worden gepoold, ligt de limiet voor detectie van *S. Dublin* in één individueel ganzenfaecesmonster in een overig salmonella-vrije pool op 50 kve per 2,5 gram, dus 20 kve per gram.

Tabel 1. Samenvatting resultaten van het kunstmatige besmettingsexperiment met ganzenmest

Beoogde inoculum (kve/25 g)	Gerealiseerde inoculum (kve/25 g)		Aantal monsters positief / Aantal kunstmatig besmette monsters	
	S. Typhimurium ¹	S. Dublin ¹ (min.; max.)	S. Typhimurium ¹	S. Dublin ¹
500	500	500; 700	3 / 3	12 / 12
100	100	100; 140	3 / 3	9 / 12
50	50	50; 70	3 / 3	8 / 12
10	10	10; 14	3 / 3	4 / 12
5	5	5; 7	2 / 3	3 / 12
0,5	0,5	0,5; 0,7	0 / 3	3 / 12

¹ Dit betreft salmonellabacteriën die eerder uit rundermest zijn geïsoleerd

Bedrijven en bedrijfsvoering

De gemiddelde bedrijfsgrootte van de 25 bezochte melkveebedrijven was 168 runderen (minimum 62, maximum 310), waaronder 59 stuks jongvee (minimum 15, maximum 154) en 109 volwassen runderen (minimum 41, maximum 190). De gemiddelde bedrijfsgrootte van de 25 bedrijven was daarmee iets hoger dan de gemiddelde bedrijfsgrootte van melkveebedrijven met een chronische salmonella-infectie (100 melkkoeien; (Kalkers-van de Ven et al., 2013)). Vier van de 25 bedrijven hadden een neventak: één bedrijf was een zorgboerderij waar tevens 1040 varkens werden gehouden, één bedrijf was een zelfzuivelaar, één bedrijf had een boerderijcamping, en één bedrijf een paardenpension.

De ligging van de bedrijven was over vier provincies verdeeld. Tien bezochte bedrijven lagen in Noord-Holland, acht bedrijven in Friesland, vijf bedrijven in Zuid-Holland en twee van de bezochte bedrijven lagen in Gelderland.

Risicofactoren voor de insleep van salmonella werden op meerdere bedrijven gezien. Op 13 van de 25 bedrijven waren het jaar voorafgaande aan het bedrijfsbezoek runderen aangevoerd van andere bedrijven. Mest werd aangevoerd op tien bedrijven: rundermest op vijf bedrijven, varkensmest op vier bedrijven en zowel runder- als varkensmest op één bedrijf. Op 22 bedrijven werd oppervlaktewater als voedrinkwater gebruikt: zowel bij jongvee als volwassen vee op 17 bedrijven, alleen bij volwassen vee op drie bedrijven en alleen bij jongvee op twee bedrijven.

Op alle bedrijven werd weidegang toegepast. Melkgevende koeien werden op alle bedrijven gedurende tenminste 120 dagen met tenminste 6 uur per dag geweid. De groep droge koeien werd op 16 van de 25 bedrijven gedurende tenminste 120 dagen met tenminste 6 uur per dag geweid, op twee bedrijven gedurende minder dan 120 dagen met tenminste 6 uur per dag en op zeven bedrijven werden de droge koeien in het geheel niet geweid. De groep drachtig jongvee werd op 23 bedrijven gedurende tenminste 120 dagen met tenminste 6 uur per dag geweid, en het niet-drachtige jongvee op 16 bedrijven.

Op alle bedrijven waren de volwassen runderen in de 12 maanden voor het bedrijfsbezoek geweid op percelen waarop tegelijkertijd of in de voorgaande zes weken ganzen werden waargenomen. Voor jongvee was dat het geval op 21 bedrijven. Zomerstalvoeding (het voeren van vers gras op stal) werd toegepast op drie bedrijven: bij twee bedrijven alleen bij het volwassen vee, en bij het derde bedrijf zowel bij het volwassen vee als bij het jongvee. Op elk van deze drie bedrijven werd daarbij ook vers gras gevoerd van percelen waarop in de voorgaande zes weken ganzen werden waargenomen.

Risicofactoren voor de verspreiding van salmonella binnen het bedrijf werden eveneens op meerdere bedrijven gezien. Op 13 van de 25 bedrijven kalfde tenminste 90% van de runderen af in een afgescheiden individuele afkalfstal. Maar slechts op vijf van deze 13 bedrijven werd de afkalfstal uitsluitend voor afkalven gebruikt. Op zeven van de 25 bedrijven werden kalveren altijd direct na de geboorte bij de koe weggehaald. Na de biestperiode kregen de kalveren op 14 bedrijven uitsluitend kunstmelk. Op acht bedrijven werd de stelling 'Kalveren krijgen (soms) antibioticamelk of hoog-celgetal melk' met 'Ja' beantwoord. Op tien bedrijven waren de kalveren tot 6 maanden gehuisvest in een stal of afdeling waar ook volwassen rundvee stond. Op zeven bedrijven was er mestcontact mogelijk tussen de stal met kalveren tot 6 maanden en de stal(len) met volwassen rundvee. Op negen bedrijven gold dat voor de kalveren tot 12 maanden. Op acht bedrijven stond het drinkwater van jongvee in verbinding met de drinkbakken van runderen ouder dan twee jaar. Tot slot werd op acht bedrijven tussen het uitrijden van mest op een perceel en beweiding van dat perceel of voeren van vers gras van dat perceel altijd een maaisnede gekuild of gehooïd; op 17 bedrijven was dat niet het geval.

Klinische klachten van salmonellose waren in het voorgaande jaar waargenomen op vier bedrijven (bij jongvee op elk van de vier bedrijven, en bij volwassen vee op één van de vier bedrijven). Leverbot was in de afgelopen tien jaar op 15 van de 25 bedrijven geconstateerd.

Tankmelkuitslagen

Op alle bedrijven werden bij tenminste de laatste vijf vier-maandelijke tankmelkuitslagen voorafgaande aan het bedrijfsbezoek afweerstoffen tegen salmonella aangetoond. In het tankmelkmonster wat bij het bedrijfsbezoek werd genomen werden op 15 van de 25 bedrijven afweerstoffen tegen salmonella aangetoond (Tabel 2). Op 18 van de 25 bedrijven werden in dit tankmelkmonster afweerstoffen tegen leverbot aangetoond (Tabel 2). Voor 16 bedrijven was de uitslag van het reguliere tankmelkonderzoek volgend op het bedrijfsbezoek beschikbaar. Bij 11 van deze 16 bedrijven werden daarin afweerstoffen tegen salmonella aangetoond.

Tabel 2. Overzicht van laboratoriumuitslagen van monsters die tijdens het bedrijfsbezoek werden verzameld.

Tankmelkmonster		Faecesmonsters		Aantal bedrijven
<i>Salmonella</i>	Leverbot	Kweek mestopslag	Ganzen	
Negatief	Negatief	Negatief	Negatief	2
Negatief	Positief	Negatief	Negatief	5
Negatief	Positief	S. Dublin	Negatief	2
Negatief	Positief	Negatief	S. Typhimurium	1
Positief	Negatief	Negatief	Negatief	5
Positief	Positief	Negatief	Negatief	4
Positief	Positief	S. Dublin	Negatief	5
Positief	Positief	S. Typhimurium	Negatief	1

Monsters mestopslag

Op zes bedrijven werd één mestopslag bemonsterd, op 13 bedrijven twee mestopslagen, op vijf bedrijven drie mestopslagen en op één bedrijf vier mestopslagen. Faeces van kalveren jonger dan zes maanden was in de bemonsterde mestopslagen opgeslagen op acht van de 25 bedrijven, van jongvee van zes maanden tot dekleeftijd op 18 bedrijven, van drachtig jongvee op 19 bedrijven, van nieuwmelkte runderen op 25 bedrijven, van hoogproductieve runderen op 25 bedrijven, van laagproductieve runderen op 25 bedrijven en van droge koeien op 22 bedrijven.

Op acht van de 25 bedrijven werden *Salmonella* spp. gekweekt uit één of meerdere mestputten (Fig. 1). Op zeven bedrijven betrof het *S. Dublin*, en op één bedrijf *S. Typhimurium* (Tabel 2). Faeces van kalveren jonger dan zes maanden was opgeslagen in de mestopslagen waaruit *Salmonella* spp. waren gekweekt op één van deze acht bedrijven, faeces van jongvee van zes maanden tot dekleeftijd op zes bedrijven, faeces van drachtig jongvee op zes bedrijven, van nieuwmelkte runderen op 5 bedrijven, van hoogproductieve runderen op vijf bedrijven, van laagproductieve runderen op vijf bedrijven en van droge koeien op vier bedrijven (Tabel 3).

Op twee bedrijven (D en H) waar *S. Dublin* werd gekweekt uit de mestopslagen, werden in het gelijktijdig genomen tankmelkmonster géén afweerstoffen tegen salmonella aangetoond (Tabel 2). Op bedrijf D werd uitsluitend *S. Dublin* gekweekt uit de mestopslag van het jongvee; op bedrijf H zowel uit de mestopslag van het jongvee als uit de mestopslag van de koeien (Tabel 3).

Fig. 1. Uitslag van onderzoek van de mestopslagen van bedrijf G.

Volgnummer : 1, EINDUITSLAG
Datum uitslag : 12/07/2012

Resultaten:

Onderzoek/ Methode	001 put 1 1-10	002 put 2 1-10	003 put 3 1-10
Q Salmonella Kweek EU	Aangetoond	Niet(s) aangetoond	Aangetoond
Q Salmonella Typering	Salmonella Dublin		Salmonella Dublin
Bacteriecultuur opslaan	De geïsoleerde bacteriecultuur zal onder bovenstaand inzendnummer worden bewaard		De geïsoleerde bacteriecultuur zal onder bovenstaand inzendnummer worden bewaard

Tabel 3. Diergroepen per mestopslag op bedrijven waarop *Salmonella* spp. werden gekweekt uit één of meerdere mestopslagen.

Bedrijf	Mestopslag	Uitslag	Diergroep met faeces in de bemonsterde mestopslag						
			Jongvee			Koeien			
			< 6 mnd	6 mnd - dekken	drachtig	Nieuwmelkt	Hoogproductief	Laagproductief	Droog
A	1	Dublin	Nee	Nee	Nee	Ja	Ja	Ja	Ja
B	1	Negatief ¹	Nee	Nee	Nee	Ja	Ja	Ja	Nee
	2	Typhimurium	Nee	Nee	Ja	Nee	Nee	Nee	Nee
C	1	Dublin	Nee	Ja	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee
	2	Negatief ¹	Nee	Nee	Nee	Ja	Ja	Ja	Ja
D	1	Negatief ¹	Nee	Nee	Nee	Ja	Ja	Ja	Ja
	2	Dublin	Nee	Ja	Ja	Nee	Nee	Nee	Nee
E	1	Dublin	Nee	Nee	Nee	Ja	Ja	Ja	Nee
	2	Dublin	Ja	Ja	Ja	Nee	Nee	Nee	Ja
F	1	Dublin	Nee	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja
G	1	Dublin	Nee	Nee	Nee	Ja	Ja	Ja	Nee
	2	Negatief ¹	Nee	Nee	Ja	Nee	Nee	Nee	Ja
	3	Dublin	Nee	Ja	Ja	Nee	Nee	Nee	Nee
H	1	Dublin	Nee	Nee	Nee	Ja	Ja	Ja	Ja
	2	Dublin	Nee	Ja	Ja	Nee	Nee	Nee	Ja

¹ Negatief: uit de betreffende mestopslag is géén *Salmonella* spp. gekweekt.

Ganzenmestmonsters

Gemiddeld werden door de veehouder in de 24 uur voorafgaande aan het bedrijfsbezoek op de bemonsterde percelen 407 ganzen waargenomen (minimum 85, maximum 1000). Op 20 bedrijven waren tijdens het bedrijfsbezoek ganzen aanwezig. Tijdens de bedrijfsbezoeken werden in totaal 4740 ganzen geteld (gemiddeld 190 per bedrijf, minimum 0 en maximum 1000). Hiervan was 94,6% grauwe gans (*Anser anser*), 3,2% nijlgans (*Alopochen aegyptiacus*), 1,1% Canadese gans (*Branta canadensis*), 1% boerengans (*Anser anser* forma domesticus), en 0,2% brandgans (*Branta leucopsis*).

Op 22 van de 25 bedrijven kon worden achterhaald wat de recentste datum was dat runderen op de bemonsterde percelen waren geweid of rundveemest op het perceel was uitgereden. Dit was gemiddeld één maand vóór het bedrijfsbezoek, met een minimum van één dag en een maximum van 8 maanden. Op 16 van de 22 bedrijven was in de laatste drie weken voorafgaande aan het bedrijfsbezoek door uitrijden van mest of beweiding rundermest op (tenminste één van) de bemonsterde percelen gebracht.

Op de 25 bedrijven werden in totaal 2500 ganzenmestmonsters verzameld. Op één bedrijf gingen tien ganzenfaecesmonsters verloren. Bij vier monsters ging de inhoud tijdens het transport verloren. Bij 102 (4%) van de overige 2486 monsters was het gewicht van het monster minder dan 5 gram (gemiddeld 3,2 gram, range 0,3 – 4,7 gram). Bij deze poolmonsters werd de hoeveelheid gebufferd pepton water in de voorophoping van het poolmonster aangepast aan het lagere gewicht. Op 12 van de 25 bedrijven werden in totaal 28 caecale ganzenmestmonsters gevonden. Dertien van deze 28 caecale monsters hadden een lager gewicht dan 5 gram (gemiddeld 2,2 gram, range 0,3 – 4,2 gram).



Caecaal mestmonster

Uit één poolmonster werd *S. Typhimurium* gekweekt (Fig. 2). Dit poolmonster kwam van het bedrijf waar tien ganzenfaecesmonsters verloren waren gegaan. Uit de overige 498 poolmonsters werden géén *Salmonella* spp. gekweekt. Het meest waarschijnlijke aantal individuele ganzenmestmonsters met een concentratie salmonellabacteriën boven de detectielimiet (i.e. 2 kve per gram voor *S. Typhimurium* en 20 kve per gram voor *S. Dublin*) ligt daardoor dicht bij één. Als zich immers in dezelfde inzending een tweede monster met een concentratie salmonellabacteriën boven de detectielimiet had bevonden, dan zou de kans dat dat monster eveneens onderdeel van pool 16 is gelijk zijn aan $8/90 = 9\%$. Omdat de monsters op volgorde van monsternummer werden verzameld (Fig. 2), ligt clustering van positieve uitslagen in één van de 'verticale' pools (i.e. pool 11 tot en met pool 20) weinig voor de hand. Gegeven dat geen andere pools uit deze inzending positief waren, is de kans dat er zich in deze inzending zo'n tweede monster zou hebben bevonden klein. Uitgaande van één positief individueel monster kan de prevalentie van monsters met een concentratie salmonellabacteriën boven de detectielimiet worden geschat op 0,04% (95% betrouwbaarheidsinterval: 0,001%, 0,22%).

Op het bedrijf waar *S. Typhimurium* werd gekweekt uit één poolmonster van ganzenfaeces werden alle ganzenmestmonsters op één perceel verzameld. Het aantal ganzen dat tijdens het bedrijfsbezoek op dit perceel aanwezig was, werd door de GD medewerker geschat op 150, waarvan 20% Canadese gans (*Branta canadensis*), 78% grauwe gans (*Anser anser*) en 2% boerengans (*Anser anser* forma domesticus).

M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	P1: Neg
M11	M12	M13	M14	M15	M16	M17	M18	M19	M20	P2: Neg
M21	M22	M23	M24	M25	M26	M27	M28	M29	M30	P3: Neg
M31	M32	M33	M34	M35	M36	M37	M38	M39	M40	P4: Neg
M41	M42	M43	M44	M45	M46	M47	M48	M49	M50	P5: Neg
M51	M52	M53	M54	M55	M56	M57	M58	M59	M60	P6: Neg
M61	M62	M63	M64	M65	M66	M67	M68	M69	M70	P7: Neg
x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	P8: missend
M81	M82	M83	M84	M85	M86	M87	M88	M89	M90	P9: Neg
M91	M92	M93	M94	M95	M96	M97	M98	M99	M100	P10: Neg
P11: Neg	P12: Neg	P13: Neg	P14: Neg	P15: Neg	P16: STY	P17: Neg	P18: Neg	P19: Neg	P20: Neg	

Fig. 2. Schematische weergave van het poolen van ganzenmestmonsters op het bedrijf waar *S. Typhimurium* uit één pool werd gekweekt. M1 tot en met M100: individueel monster 1 tot en met 100; P1 tot en met P20: pool 1 tot en met pool 20; Neg = negatief; STY = *S. Typhimurium*.

Overeenkomst *Salmonella*-typen rundermest en ganzenmest

Uit één poolmonster van ganzenfaeces werd *S. Typhimurium* gekweekt. Op het bedrijf waar dit poolmonster was verzameld werden drie mestopslagen bemonsterd. Uit geen enkele van deze mestopslagen werden *Salmonella* spp. gekweekt (Tabel 2). Op dit bedrijf werden bij de laatste zeven tankmelkonderzoeken voorafgaande aan het bedrijfsbezoek steeds afweerstoffen tegen salmonella aangetoond. In het tankmelkmonster wat tijdens het bedrijfsbezoek werd verzameld, werden echter geen afweerstoffen tegen salmonella aangetoond (Tabel 2). Ook in de drie reguliere vier-maandelijke tankmelkonderzoeken die op het bedrijfsbezoek volgden werden geen afweerstoffen tegen salmonella aangetoond. Vier dagen voor het bedrijfsbezoek waren op dit bedrijf individuele melkmonsters verzameld van 116 runderen. In tien van deze 116 melkmonsters werden met een ELISA gericht op de serogroepen B en D afweerstoffen tegen salmonella aangetoond. Zes weken na het bedrijfsbezoek werden sera afgenomen van 27 runderen; bij twee van deze 27 runderen werden afweerstoffen aangetoond met een ELISA gericht op de serogroepen B en D. Van 11 van de 12 runderen met afweerstoffen werd een faecesweek uitgevoerd; hierbij werden geen *Salmonella* spp. geïsoleerd.

5. Discussie

De doelstelling van dit onderzoek was vast te stellen wat de prevalentie van *Salmonella* spp. in ganzenmest is op persistent geïnfecteerde melkveebedrijven, en vast te stellen in welke mate de salmonella-typen die in ganzenmest aan worden getroffen overeenkomen met de salmonella-typen in de rundmest van deze bedrijven.

Op basis van de resultaten van dit onderzoek is de prevalentie van monsters met een concentratie salmonellabacteriën boven de detectielimiet geschat op 0,04% (95% CI: 0,001%, 0,22%). De overeenkomst tussen het salmonella-type wat in ganzenmest werd gedetecteerd en de salmonellastammen waarmee het rundvee op hetzelfde bedrijf was geïnfecteerd kon niet vast worden gesteld, omdat op het bedrijf geen *Salmonella* spp. uit runderfaeces werd geïsoleerd.

De geschatte prevalentie in de huidige studie is lager (Fisher exact test $P < 0,01$) dan eerdere schattingen van 10% uit Engeland (Feare et al., 1999) en 30% uit Canada (Jokinen et al., 2011), maar niet verschillend van de eerdere schattingen van 0,8% uit Nederland (Heuvelink et al., 2008) en 0% uit Zweden (Wahlstrom et al., 2003).

Uit de inventarisatie van de bedrijfsvoering bleek dat runderen op een substantieel deel van de deelnemende bedrijven bloot kunnen worden gesteld aan ganzenfaeces. Op alle bedrijven waren de volwassen runderen in de 12 maanden voor het bedrijfsbezoek geweid op percelen waarop tegelijkertijd of in de voorgaande zes weken ganzen werden waargenomen. Op 21 bedrijven gold dat eveneens voor jongvee. Ook werden de foeragerende ganzen op een substantieel deel van de onderzochte bedrijven blootgesteld aan rundmest. Door bemesting of beweiding was op 16 van de 25 bedrijven rundmest op bemonsterde percelen gebracht in de laatste drie weken voorafgaande aan de bemonstering. Het ontbreken voor aanwijzingen voor overdracht van de infectie tussen ganzen en rundvee kan daarom niet worden verklaard uit afwezigheid van contact met mest op de specifieke bedrijven in deze studie. Op het bedrijf waar *S. Typhimurium* werd geïsoleerd uit ganzenmest werden bij de laatste zeven tankmelkonderzoeken voorafgaande aan het bedrijfsbezoek steeds afweerstoffen tegen salmonella aangetoond. Op dit bedrijf werd de salmonella-infectie bij rundvee succesvol onder controle gebracht. Dit blijkt uit de herhaaldelijke gunstige uitslagen van tankmelkmonsters die tijdens en na het bedrijfsbezoek werden onderzocht, en de negatieve uitslagen van zowel monsters uit de mestopslag als individuele faecesmonsters van runderen met afweerstoffen tegen salmonella. Uit de huidige studie komen dan ook geen aanwijzingen dat salmonella-infecties bij ganzen moeten worden gezien als de stuwende kracht achter het persisteren van salmonella-infecties op een substantieel deel van de chronische geïnfecteerde bedrijven.

De huidige studie werd uitgevoerd om meer inzicht te verkrijgen in de risico's van ganzenmest op rundveebedrijven. Een opvallende nevenbevinding bij deze studie was dat tien van de 25 veehouders mest aanvoerden van varkensbedrijven of andere rundveebedrijven. De aanvoer van mest is een bekende risicofactor voor de insleep van salmonella op melkveebedrijven (Veling et al., 2002). Mogelijk zijn veehouders zich onvoldoende bewust van de risico's van de aanvoer van mest.

Een tweede nevenbevinding in de huidige studie was dat er een trend was dat *Salmonella* spp. alleen uit de mestopslag werden geïsoleerd op bedrijven met afweerstoffen tegen leverbot. Dit bevestigt de resultaten van eerder onderzoek dat salmonella-infecties en leverbotinfecties vaak op dezelfde rundveebedrijven en bij dezelfde runderen vóórkomen (Frik, 1969; Taylor and Kilpatrick, 1975; Vaessen et al., 1998). Hiervoor zijn twee verklaringen. In de eerste plaats is de ligging van het rundveebedrijf in een waterrijk gebied een risicofactor voor beide infecties (Taylor and Kilpatrick, 1975). In de tweede plaats verhoogt een leverbotinfectie de gevoeligheid van runderen voor een *S. Dublin* infectie, waardoor verschijnselen van salmonellose ernstiger worden (Hall et al., 1981) en runderen langer infectieus blijven (Aitken et al., 1978b; Aitken et al., 1981). Runderen met een leverbotinfectie hebben na een bacteriëmie een grotere kans om salmonelladrager te blijven dan runderen zonder leverbotinfectie (Aitken et al., 1978a; Aitken et al., 1978b; Hall et al., 1981). Het is daarom aannemelijk dat de aanpak van leverbot op een bedrijf op langere termijn een gunstig effect heeft op de beheersing van salmonella. Mogelijk kan een intensivering van de voorlichting aan veehouders over het belang van preventieve maatregelen tegen leverbot de kans op succesvolle beheersing van salmonella vergroten.

Het huidige onderzoek werd uitgevoerd op melkveebedrijven met een chronische salmonella-besmetting. Hiervoor werd gekozen om de kans te vergroten dat isolaten van runderen en ganzen op hetzelfde bedrijf met elkaar zouden kunnen worden vergeleken. Deze keus betekende tevens dat de kans dat ganzen waarvan faecesmonsters werden verzameld, zouden zijn blootgesteld aan *Salmonella* spp. uit rundermest groter was dan wanneer op een *random* steekproef van Nederlandse melkveebedrijven zou zijn bemonsterd.

In deze studie was een selectie criterium voor deelnemende melkveebedrijven dat zich op de dag van het bedrijfsbezoek tenminste 100 overzomerende ganzen op het bedrijf bevonden, op stukken grasland met een totaal oppervlak van maximaal 1 ha. Een aantal melkveebedrijven waarvan de veehouder graag bereid was mee te doen aan de studie voldeed niet aan dit criterium. Er waren echter drie belangrijke redenen voor dit criterium: (i) voor overzomerende ganzen (en niet voor overwinterende ganzen) werd gekozen omdat de kans op infectieuze contacten in de weideperiode waarschijnlijk groter is dan in de stalperiode, (ii) door bedrijven te selecteren met een groot aantal (>100) ganzen werd de kans vergroot dat bedrijven met infectieuze contacten tussen ganzen en runderen zouden worden geselecteerd, (iii) door bedrijven te selecteren met een groot aantal ganzen op een beperkte oppervlakte (>100 ganzen per ha grasland) werd de kans vergroot dat voldoende verse faecesmonsters zouden kunnen worden verzameld.

In de voorgenomen studieopzet was voorzien in een vergelijking van de isolaten uit ganzenfaeces en de isolaten uit runderfaeces van hetzelfde bedrijf met behulp van een moleculair-biologische typeringstechniek (PFGE). Omdat op geen enkel bedrijf *Salmonella* spp. uit zowel ganzen- als runderfaeces is geïsoleerd, kon de voorgenomen opzet op dit punt niet worden uitgevoerd. Een aanbevelingswaardige alternatieve benadering is om het uit ganzenfaeces verkregen *S. Typhimurium*-isolaat met deze techniek te vergelijken met *Typhimurium*-isolaten die uit routineonderzoek van rundermonsters worden verkregen. Op die manier kan in kaart worden gebracht hoe nauw het ganzen-isolaat verwant is aan op Nederlandse melkveebedrijven voorkomende stammen.

6. Conclusie en aanbevelingen

Geconcludeerd wordt dat *S. Typhimurium* werd aangetoond in ganzenfaeces, maar dat de prevalentie van *Salmonella* spp. in ganzenmest op grasland op langdurig besmette melkveebedrijven laag is. De prevalentie van ganzenkeutels met een concentratie salmonellabacteriën boven de detectielimiet (i.e. 2 kve per gram voor *S. Typhimurium* en 20 kve per gram voor *S. Dublin*) wordt op basis van de resultaten van deze studie geschat op 0,04% (95% CI: 0,001%, 0,22%). Er werden op geen van de melkveebedrijven overeenkomstige salmonella-typen uit ganzenfaeces en runderfaeces geïsoleerd. Geconcludeerd wordt dat de huidige studie géén aanwijzingen oplevert voor een rol van salmonella-infecties bij ganzen in het persisteren van salmonella-infecties op chronische geïnfekteerde melkveebedrijven. Verder onderzoek naar andere factoren die een rol spelen bij de persistentie van salmonella-infecties op geïnfekteerde melkveebedrijven is daarom zinvol.



7. Dankwoord

De auteurs zijn Jeroen Nuisl en Henk Davelaar (FBE Utrecht) dankbaar voor hun grote enthousiasme en drive bij de opzet en uitvoering van deze studie. De auteurs danken de veehouders die meewerkten aan dit project, de leden van de begeleidingscommissie (Ron Beenen, Frans van Bommel, Marius Bouwmeester, Henk Davelaar, Andrea Gröne, Suzanne Groot, Jan Izaks, Maarten Leseman, Rolando Montessori, Jeroen Nuisl, Mona van Spijk; s.s.t.t.), Qlip (Johan Tippe), de Nederlandse Zuivel Organisatie en de betrokken zuivelondernemingen voor hun bijdragen aan dit project. De auteurs zijn SOVON Vogelonderzoek Nederland (Berend Voslammer), het Faunafonds (Frans van Bommel, Henk Revoort), de Provincie Utrecht (Ron Beenen, Frank Bos) en de Koninklijke Nederlandse Jagers Vereniging KNJV (Margriet Montizaan, Colinda Vergeer) zeer erkentelijk voor het beschikbaar stellen van datasets van tellingen van ganzen. Tot slot zijn de auteurs Rein Zwaan (Staatsbosbeheer) zeer erkentelijk voor het trainen van de projectteamleden in het herkennen van de verscheidene soorten ganzen.



nederlandse zuivel organisatie



8. Literatuur

- Aitken, M.M., Hughes, D.L., Jones, P.W., Hall, G.A., Collis, K.A., 1978a. Effects of intravenous *Salmonella dublin* on cattle at different stages of *Fasciola hepatica* infection. J. Comp Pathol. 88, 433-442.
- Aitken, M.M., Jones, P.W., Hall, G.A., Hughes, D.L., Brown, G.T., 1981. Responses of fluke-infected and fluke-free cattle to experimental reinfection with *Salmonella dublin*. Res. Vet. Sci. 31, 120-126.
- Aitken, M.M., Jones, P.W., Hall, G.A., Hughes, D.L., Collis, K.A., 1978b. Effects of experimental *Salmonella dublin* infection in cattle given *Fasciola hepatica* thirteen weeks previously. J. Comp Pathol. 88, 75-84.
- Anon, 2007. ISO 6579: 2002 Annex D: Detection of *Salmonella* spp. in animal faeces and in environmental samples from the primary production stage. International Organisation for Standardization, Geneva, 14 pp.
- Barrow, P.A., Simpson, J.M., Lovell, M.A., 1988. Intestinal colonisation in the chicken by food-poisoning *Salmonella* serotypes; microbial characteristics associated with faecal excretion. Avian Pathol. 17, 571-588.
- de Boer, V., Voslamber, B., 2010. Hoeveel overzomerende ganzen telt Nederland? SOVON-Nieuws 23, 3-4.
- Faunafonds, 2012. Schadecijfers Faunafonds. <http://www.faunafonds.nl/index.asp?p=232&t=Schadecijfers>, Accessed: 5-10-2013.
- Feare, C.J., Sanders, M.F., Blasco, R., Bishop, J.D., 1999. Canada goose (*Branta canadensis*) droppings as a potential source of pathogenic bacteria. J. R. Soc. Promot. Health 119, 146-155.
- Fossler, C.P., Wells, S.J., Kaneene, J.B., Ruegg, P.L., Warnick, L.D., Bender, J.B., Eberly, L.E., Godden, S.M., Halbert, L.W., 2005. Herd-level factors associated with isolation of *Salmonella* in a multi-state study of conventional and organic dairy farms I. *Salmonella* shedding in cows. Prev. Vet. Med. 70, 257-277.
- Frik, J.F., 1969. *Salmonella dublin*-infecties bij runderen in Nederland. PhD thesis, Rijksuniversiteit Utrecht, Utrecht, 190 pp.
- Guibourdenche, M., Roggentin, P., Mikoleit, M., Fields, P.I., Bockemuhl, J., Grimont, P.A., Weill, F.X., 2010. Supplement 2003-2007 (No. 47) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. Res. Microbiol. 161, 26-29.
- Hall, G.A., Hughes, D.L., Jones, P.W., Aitken, M.M., Parsons, K.R., Brown, G.T., 1981. Experimental oral *Salmonella dublin* infection in cattle: effects of concurrent infection with *Fasciola hepatica*. J. Comp Pathol. 91, 227-233.
- Heuvelink, A.E., Zwartkruis, J.T., van, H.C., Arends, B., Stortelder, V., de, B.E., 2008. [Pathogenic bacteria and parasites in wildlife and surface water]. Tijdschr. Diergeneesk. 133, 330-335.
- Jokinen, C., Edge, T.A., Ho, S., Koning, W., Laing, C., Mauro, W., Medeiros, D., Miller, J., Robertson, W., Taboada, E., Thomas, J.E., Topp, E., Ziebell, K., Gannon, V.P., 2011. Molecular subtypes of *Campylobacter* spp., *Salmonella enterica*, and *Escherichia coli* O157:H7 isolated from faecal and surface water samples in the Oldman River watershed, Alberta, Canada. Water Res. 45, 1247-1257.
- Kalkers-van de Ven, S., Santman-Berends, I., ten Wolthuis, A., Weber, M.F., 2013. Plan van aanpak (PvA) salmonella: evaluatie en resultaat inspanning, Fase 2: Uitvoering van PvA's op geselecteerde N3 bedrijven. GD, Deventer.
- Klok, C., van Turnhout, C., Willems, F., Voslamber, B., Ebbinge, B., Schekkerman, H., 2013. Analysis of population development and effectiveness of management in resident greylag geese *Anser anser* in the Netherlands. Animal Biology 60, 373-393.
- Taylor, S.M., Kilpatrick, D., 1975. The relationship between concurrent liver fluke infection and salmonellosis in cattle. Vet. Rec. 96, 342-343.
- Vaessen, M.A., Veling, J., Frankena, K., Graat, E.A., Klunder, T., 1998. Risk factors for *Salmonella dublin* infection on dairy farms. Vet. Q. 20, 97-99.
- Veling, J., Wilpshaar, H., Frankena, K., Bartels, C., Barkema, H.W., 2002. Risk factors for clinical *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium infection on Dutch dairy farms. Prev. Vet. Med. 54, 157-168.
- Voslamber, B., van der Jeugd, H., Koffijberg, K., 2008. Broedende ganzen in Nederland. De Levende natuur 111, 40-44.
- Wahlstrom, H., Tysen, E., Olsson, E.E., Brandstrom, B., Eriksson, E., Morner, T., Vagsholm, I., 2003. Survey of *Campylobacter* species, VTEC O157 and *Salmonella* species in Swedish wildlife. Vet. Rec. 153, 74-80.
- Warnick, L.D., Crofton, L.M., Pelzer, K.D., Hawkins, M.J., 2001. Risk factors for clinical salmonellosis in Virginia, USA cattle herds. Prev. Vet. Med. 49, 259-275.
- Weber, M.F., Brouwer-Middelesch, H., Veling, J., Kock, P.A., Montessori, R.A.M., van Schaik, G., 2013. Decreasing prevalence in Dutch dairy herds under salmonellosis surveillance. In: Colin, P. and Clement, G. (Eds.), Proc. I3S International Symposium Salmonella and Salmonellosis, 27-29 May, Saint-Malo, France, p. 328.]
- Weber, M.F., Veling, J., Lam, T.J.G.M., 2010. Surveillance of *Salmonella* spp. in Dutch dairy herds. In: Colin, P. and Clement, G. (Eds.), Proceedings of the International Symposium Salmonella and Salmonellosis, Saint-Malo, France, June, 28-30, pp. 249-252.]