

ID-LELYSTAD

POLITIE GLD. MIDDEN  
FACILITAIR BEDRIJF

10 MEI 2001

CLASS. NO .....  
Post no. ....  
Bestemd voor: .....  
Afdeling: .....  
Beh. Ambtenaar: .....

Dhr T. van Eldijk

DATUM  
7 mei 2001  
BEHANDELD DOOR  
E.M.A. van Rooij  
DOORKIESNUMMER  
38602E-MAIL  
e.m.a.vanrooij@id.wag-ur.nl

Geachte heer van Eldijk,

Naar aanleiding van onze gesprekken op 23 en 26 april 2001, doe ik U toekomen een verdere uitwerking van het overzicht gemaakt als achtergrondinformatie t.b.v. Dr. H. de Smit en Dr. A. Dekker in verband met een juridische procedure op 2 april 2001.

Leidraad in het onderzoek Kootwijkerbroek is het feit dat de eerste PCR resultaten het bedrijf zwaar verdacht maakten. Dit in combinatie met de beperkte gevoeligheid van varkensniercellen (informatie op basis van UK ervaringen en Oene), heeft na overleg met en op verzoek van Drs F. Plumers, CVO, geleid tot het uitvoeren van een kalverproef op 26 maart. Het inzetten van lammernieren t.b.v. de virusisolatie heeft pas kunnen plaats vinden vanaf 26 maart omdat we toen de beschikking kregen over deze lammerniercellen. Het overzicht geeft de onderzoeken aan in relatie tot de inzending en de verschillende testsystemen in tijd waarbij een overlap is in de acties in tijd. Tevens is ingesloten een verslag van de kalverproef.

**Kootwijkerbroek inzending 1; datum van registratie 21 maart 2001**  
Boerderij Teunissen, UBN nr. 1211771, DSU nr. 578835, praktijknummer 26.  
In het overzicht van 2 april 2001 is abusievelijk melding gemaakt van een DSU nr. 5778835. Type fout -een 7 teveel.  
Monsters: 1 x blaarwandachtig materiaal (er was geen sprake van echt blaarwandmateriaal maar van een schraapsel van mondepitheel), 4 x heparine en 4 x serum . Anamnese: 4 weken oude kalveren, wat speekselen en temp > 40°C.

**Virus Ag IDAS-ELISA/ virus isolatie**

Op 21 maart 2001: er was te weinig blaarwandachtig materiaal voor het inzetten van een antigeen (Ag) IDAS-ELISA. Het blaarwandachtig materiaal en 4 x heparines zijn individueel ingezet in de virusisolatie. Hierbij werd gebruikt gemaakt van varkensniercellen (VN2) en het betrof protocol virusisolatie (protvi) nummer 14.

A

Op 22 maart: cellen van de virusisolatie van het blaarwandachtig materiaal en heparine nr. 4 zien raar uit: materiaal toxisch? Er is toen 500 µl supernatant uit deze kweken genomen en getest in een Ag IDAS-ELISA (protidas 01.21). Uitslag: negatief voor MKZ.

B

Tevens is er ook 50 µl van het supernatant van deze kweken doorgepasseerd op VN2 (protvi 19) om te zien of het materiaal inderdaad toxisch. Bij doorpassage leek het erop dat het materiaal toxisch was.

C

ID-Lelystad, Instituut voor  
Dierhouderij en  
Diergezondheid BV  
Postbus 65  
8200 AB Lelystad  
BEZOEKADRES  
Houtribweg 39  
8221 RA Lelystad  
TELEFOON  
(0320) 23 82 38  
FAX  
(0320) 23 86 68  
RYK  
39073054 - Lelystad  
INTERNET  
www.id.wageningen-ur.nl

142 /

A De virusisoliatiekweken van de heparine 1, 2 en 3 (protvi 14) ondergingen geen extra handeling. Er werd geen cytopathogeen effect (CPE) waargenomen.

D Op 23 maart: het supernatant van de blaarwandkweek van protvi 14 getest in de Ag IDAS-ELISA (protidas 01.22). Uitslag: negatief voor MKZ.  
E Tevens werd supernatant van de blaarwandkweek van protvi 14 doorgezet (protvi 21) op VN2 onder methylcellulose. Er werden geen CPE plaques waargenomen.

Kweken van heparine 1 en 2 van protvi 14 zijn gepooled net als de kweken van heparine 3 en 4 van protvi 14. Beide pools zijn niet getest in Ag IDAS-ELISA maar wel doorgepasseerd op VN2 (protvi 21) onder methylcellulose. Er werden geen CPE plaques waargenomen.

Conclusie: bepaalde monsters soms toxisch. Geen definitief eindresultaat te geven daar ook geen Ag IDAS-ELISA was uitgevoerd op de heparinekweken. Er is toen besloten om het oorspronkelijk heparine materiaal opnieuw te testen in de virusislatie. Er is geen blaarwandachtig materiaal meer ingezet daar al dit materiaal verbruikt was.

F Op 25 maart: het oorspronkelijk heparine materiaal individueel opnieuw ingezet op VN2  
G (protvi 24). Geen CPE waargenomen op 26 en 27 maart. Supernatants (heparine 1, pool van heparines 2-4) getest in de Ag- IDAS ELISA (protidas 01.27): negatief.  
H Supernatant van de kweek van heparine 1 en een pool van de kweken van heparines 2, 3 en 4 zijn doorgepasseerd op zowel op lammerniercellen als op varkensniercellen (protvi 30). Er werd toen gebruikt gemaakt van lammerniercellen omdat lammerniercellen gevoeliger zijn voor het isoleren van MKZ.

Op 28 maart: veel CPE in heparine 1 op lammerniercellen, geen duidelijk CPE op varkensniercellen. Geen CPE in pool heparine 2-4.

I en J Kweekmateriaal van heparine 1 is getest in de Ag IDAS -ELISA (protidas 01.29/01.31): positief.  
Kweekmateriaal van pool heparine 2 t/m 4 is getest in de Ag IDAS -ELISA (protidas 01.31): negatief.

#### PCR

Op basis van PCR resultaten van heparines op 22 en 25 maart 2001, Kootwijkerbroek sterk verdacht. Gezien de PCR resultaten en de beperkte gevoeligheid van varkensniercellen is in overleg en op verzoek van de CVO een kalverproef ingezet.

Nogmaals PCR op 27 maart: heparine 1 van praktijkgeval 26 in duplo PCR positief.

#### Kalverproef 0-1358

Op 26 maart zijn de oorspronkelijke heparine 1 en heparine 2 van praktijkinzending 26 (dd 21 maart) en de oorspronkelijk blaarwandmaterialen van praktijkgeval 35 (dd 22 maart; 35-xx en 35-3247) in de tong van een kalf gespoten. Beschrijving kalverproef ingesloten.

Tijdens sectie, blaarwandmateriaal genomen van insteekkanalen van heparine 1 en 2 en van 35-3247. Materiaal gepooled in antigeen IDAS ELISA getest (protidas 01.29): positief.

#### Serologie

4 monsters MKZ antilichaam negatief.

Op basis van de uitkomsten van de dierproef, de virusislatie met bijbehorende IDAS ELISA's en PCR is de inzending van het bedrijf positief bevonden.

ID-Lelystad, Instituut voor  
Dierhouderij en Diergezondheid  
BV

DATUM  
7 mei 2001

PAGINA  
2 van 4

**Kootwijkerbroek inzending 2 op 22 maart 2001**

Boerderij Teunissen, UBN nr. 1211771, DSU nr. 578763, praktijknummer 35.

Monsters: 1 x schraapsel (35-xx) en 1 x kalfskop (kalf 3247), 4 x serum.

Anamnesis: laesies nemen wat toe en bij meer kalveren. Kop: kleine laesies aan de tong.

Laesies verzameld en verwreven en schraapsel ook verwreven. Overzicht heeft betrekking op virusisolatie op gevoelig celsysteem: lammerniercellen.

**Virus Ag IDAS-ELISA/ virus isolatie**

Op 27 maart is het monster 35-3247 ingezet voor virusisolatie op lammerniercellen (protvi 31). Na 48 uur is er CPE waargenomen. Het kweekmateriaal is vervolgens in de Ag IDAS-ELISA (protidas 01.31) getest. Uitslag : positief.

Het oorspronkelijk materiaal van 35-3247 is ook nog ingezet op lammerniercellen op 28 maart (protvi 34). Beginnend CPE werd waargenomen op dag 2: kweekmateriaal getest in Ag IDAS-ELISA (prot 01.33): negatief. Het kweekmateriaal van passage protvi 34 is vervolgens doorgepasseerd (protvi 40) op lammerniercellen. CPE nu reeds aanwezig op dag 1 van kweek. Op dag 2 kweekmateriaal genomen en getest in de Ag IDAS-ELISA (protidas 01.36). Uitslag: positief.

Het oorspronkelijk materiaal van schraapsel (35-xx) is ook op lammerniercellen getest (protvi 34): geen CPE. Kweekmateriaal getest in Ag IDAS-ELISA (protidas 01.33): negatief. Kweekmateriaal van passage protvi 34 doorgepasseerd (protvi 40). Geen CPE.

**Serologie**

4 monsters MKZ antilichaam negatief.

**Kootwijkerbroek inzending 3 op 25 maart 2001**

Boerderij Teunissen, UBN nr. 1211771, DSU nr. 579405, praktijknummer 50.

Monsters: 4 kalverkoppen (NL 2980 5803 3; NL 3217 9740 9; NL 2927 7805 8 en DE 13009 85687); bij sectie was er onvoldoende aanleiding (geen blaren) om vervolgonderzoek in te zetten.

15 heparine monsters zijn opgeslagen en niet verder in onderzoek genomen.

**Serologie**

15 monsters MKZ antilichaam negatief

ID-Lelystad, Instituut voor  
Dierhouderij en Diergezondheid  
BV

datum  
7 mei 2001

PAGINA  
3 van 4

Verslag kalverproef 0-1358 Kootwijkerbroek

26 maart 2001

Codes monsters Kootwijkerbroek: 26-1, 26-2, 35-xx en 35-3247.

Proefdier (kalf) 5144 in stal 222.070.

16.30h: kalf 5144 met materiaal Kootwijkerbroek Teunissen ingespoten. Monsters individueel ingespoten in tong op 4 verschillende locaties met voor ieder monster een schone naald.

27 maart

8.00h: kalf 5144 bekeken: geen klinische verschijnselen van MKZ, geen koorts.

13.30h: Idem, geen bijzonderheden. .

1600h: Geen bijzonderheden.

28 maart

8.30h: kalf 5144 kwijlt iets, geen koorts. In eerste instantie zonder sedatie tong bekeken; 2 blaren zichtbaar. Dier vervolgens gesedeerd en tong en verhemelte bekeken; 2 gelocaliseerde blaren ter hoogte van insteekkanalen 26-2 en 26-1. Verhemelte negatief. In overleg met A. Dekker besloten dier nog wat langer te laten staan.

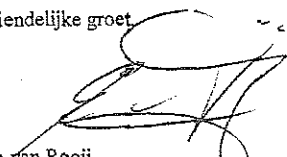
13.30h: Kalf 5144 kwijlt. Tong van dier 5144 zonder sedatie bekeken; 1 blaar al kapot, meerdere blaren zichtbaar. Temperatuur is inmiddels van 38,6°C gestegen naar 39,5°C. Dier leek gevoelig aan met name voorklauwen. In overleg met A. Dekker besloten dier af te voeren ter sectie. *Blaarwandmateriaal genomen ter hoogte van insteekkanalen van 26-1, 26-2 en 35-32-47.* Tijdens sectie ook blaartje op kroonrand en blaren op verhemelte.

ID-Lelystad, Instituut voor  
Dierhouderij en Diergezondheid  
BV

DATUM  
7 mei 2001

PAGINA  
4 van 4

Met vriendelijke groet



Eugene van Rooij  
Cluster Aangifteplichtige, Exotische Virusziekten

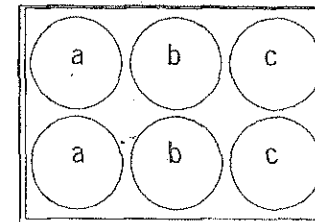
Protocol nr:

pt 01.26 (2) P14

Paraaf uitvoerder:  
Paraaf beoordelaar:

Virusisolatie MKZ op VN<sub>2</sub>

Datum inzetten : 21.03.01.  
 Datum aflezen :  
 Aangelegd met batch : 01.11  
 Platen/buizen aangelegd d.d. : 00.03.  
 Conditie monolayer (inzetten test) : mooi % confluent  
 Opmerkingen : erg weinig ~~mat~~ materiaal!  
 Middel schaapsel



Plaat	Positie	DSU nummer	Monster soort	CPE 1 <sup>e</sup> pasage (+/-)	IDAS 1 <sup>e</sup> passage (+/-)	CPE 2 <sup>e</sup> pasage (+/-)	IDAS 2 <sup>e</sup> passage (+/-)	Uitslag
1	a	<del>1003/0001</del>	blaar / heparine	baat / baat				
	b		<del>blaar / heparine</del>	—				
	c		<del>blaar / heparine</del>	—				
2	a		<del>blaar / heparine</del>	—				
	b		<del>blaar / heparine</del> baat →	—	200 - P14 VI - 220301.			
	c		<del>blaar / heparine</del> <small>confluent</small>	—				
3	a		blaar / heparine					
	b		blaar / heparine					
	c		blaar / heparine					
4	a		blaar / heparine					
	b		blaar / heparine					
	c		blaar / heparine					

MKZ IDAS-ELISA Werkprotocol

Protocol nr : 0121  
 Datum test : 220301  
 Naam uitvoerder :   
 Datum coating ELISA plaat : 210301  
 Lotnr. Rabbit anti Guinea-pig Peroxidase :

Paraaf uitvoerder: PM  
 Paraaf beoordelaar:   
*In deze test vergeleken: IDAS met pm DAS*

Type	Controle antigeen (verduunnings reeks) (batch nr.)	Rabbit anti MKZ (1:1000) (batch nr.)	Guinea-pig anti MKZ (1:500) (batch nr.)	Titer controle antigeen
A <sub>10</sub>	1:300			
O <sub>1</sub> man	1:1000			
C <sub>1</sub>	1:60			
<del>SAT-1</del> SVD	1:40			
SAT-2				
SAT-3				
Asia-1				
SVD				

Monster	Omschrijving	Plaat	Positie	Resultaat (Type)	Opmerkingen
1					
2	1.26. 1 blaer 1		567	+	neg
3	1.26. 5 hep 1		91011	+	neg
4					
5					
6	Supernatant van test 21-03-01				
7	vanw. contaminatie → "pe achter"				
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					



## ID-Lelystad

Date: ~~18-01-2001~~

Type of test: idas 220301

Number of plates = 1

Filter: 492nm.

Saved Filename: 220301bm

IDAS

Blank correction = 0

Cut-off value = 0

## PLATE NUMBER 1

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	649	474	358	80	243	175	129	79	85	84	85	89
B	1248	989	838	87	709	500	396	100	107	109	109	106
C	408	289	233	105	183	142	114	81	84	83	93	82
D	588	484	488	85	343	226	148	75	81	97	81	81
E	98	92	92	104	99	97	80	80	91	90	85	93
F	110	102	132	99	96	106	93	99	129	139	118	107
G	100	99	145	140	136	96	80	92	103	97	95	83
H	98	137	118	175	173	86	90	84	109	133	80	82

Mean of twelfth column = 90.37501



Protocol nr:

P19

Virusisolatie MKZ op VN<sub>2</sub>

Paraaf uitvoerder:  
Paraaf beoordelaar:

Datum inzetten

22032001

Datum aflezen

Aangelegd met batch

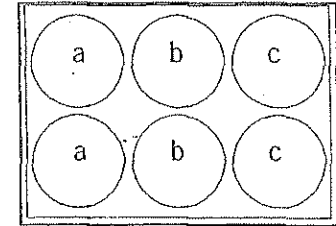
Platen/buizen aangelegd d.d.

210501

Conditie monolayer (inzetten test)

% confluent

Opmerkingen



Plaat	Positie	DSU nummer	Monster soort	CPE 1 <sup>e</sup> pasage (+/-)	IDAS 1 <sup>e</sup> passage (+/-)	CPE 2 <sup>e</sup> pasage (+/-)	IDAS 2 <sup>e</sup> passage (+/-)	Uitslag
1	a		blaar / heparine					
	b	1.26.1	blaar / heparine <i>pass</i>	baak/baak	↓	0.9pm		
	c	1.26.5	blaar / heparine <i>pass</i>	baak/baak	↓	0.9pm		
2	a		blaar / heparine					
	b		blaar / heparine					
	c		blaar / heparine					
3	a		blaar / heparine					
	b		blaar / heparine					
	c		blaar / heparine					
4	a		blaar / heparine					
	b		blaar / heparine					
	c		blaar / heparine					

MKZ IDAS-ELISA Werkprotocol

Protocol nr : 01.22  
 Datum test : 23.03.01  
 Naam uitvoerder : XXXXXXXXXX  
 Datum coating ELISA plaat : 21/3  
 Lotnr. Rabbit anti Guinea-pig Peroxidase : 11000

Paraaf uitvoerder:  
 Paraaf beoordelaar:

Type	Controle antigeen (verduunnings reeks) (batch nr.)	Rabbit anti MKZ (1:1000) (batch nr.)	Guinea-pig anti MKZ (1:500) (batch nr.)	Titer controle antigeen
A <sub>10</sub>	1:300	M-PA-9628	M-PA-9825	
O <sub>1</sub> M	1:10000	M-PA-9620	M-PA-9622	
C <sub>1</sub>	1:60	M-PA-9625	M-PA-9626	
<del>SAT-1</del>	<del>1:40</del>	<del>M-PA-9826</del>	<del>M-PA-9825</del>	
<del>SAT-2</del>	<del>1:4</del>	<del>M-PA-9641</del>	<del>M-PA-9642</del>	
<del>SAT-3</del>	<del>1:2</del>	<del>M-PA-9643</del>	<del>M-PA-9644</del>	
<del>Asla-1</del>	<del>1:200</del>	<del>M-PA-9639</del>	<del>M-PA-9623</del>	
<del>SVD</del>	<del>1:40</del>	<del>S-PA-9816</del>	<del>S-PA-9817</del>	

Mon Omschrijving Plaat Positie Resultaat Opmerkingen  
 ster (Type)

1					
2					
3	01.26	1	5-7	S	
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					

01.22

Paraaf uitvoerder :

*[Handwritten signature]*

Paraaf beoordelaar :

*[Handwritten signature]*

Bestandsnaam: 230301ak

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Blanc
	Resultaat Plaat 1												
A	683	457	281	-	164	-	-	-	-	-	-	-	83
OM	1076	851	677	-	525	344	244	-	165	153	136	-	101
C	312	210	151	-	-	-	-	-	1488	351	-	-	143
SVD	433	332	300	-	187	-	-	-	481	113	-	-	95
A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	194	-	-	86
OM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	306	-	-	96
C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	84
SVD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	96

Resultaat Plaat 2

A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	124
OM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	151
C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	205
SVD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	170
A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	145
OM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	156
C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	101
SVD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	95

Resultaat Plaat 3

A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
OM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
SVD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
OM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
SVD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0

Resultaat Plaat 4

A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
OM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
SVD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
OM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
SVD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0

Resultaat Plaat 5

A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
OM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
SVD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
OM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
SVD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0

*comul.* 01.25.1A } netat elist  
 01.29 }  
 net A

D3

01.22

ID-Lelystad

Date:16-01-2001

Type of test:idas230301ak

Number of plates = 2

Filter: 492nm.

Saved Filename:230301ak

Blank correction = 0

Cut-off value = 0

PLATE NUMBER 1

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	766	540	364	82	247	168	130	82	103	100	91	84
B	1177	952	778	90	626	445	345	98	266	254	237	115
C	455	353	294	88	228	147	127	121	1631	494	164	220
D	528	427	395	84	282	189	139	88	576	208	110	114
E	84	83	83	86	95	91	94	85	88	280	117	88
F	91	89	87	89	115	117	90	91	106	402	104	107
G	79	79	78	82	105	119	83	82	86	104	86	87
H	80	80	82	104	96	98	86	82	96	93	84	102

Mean of twelfth column = 114.625

D4

01.22

PLATE NUMBER 2

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	90	92	87	84	90	126	119	130	134	145	148	157
B	91	89	88	90	100	178	150	163	178	193	195	199
C	134	132	124	119	114	156	168	303	186	221	186	192
D	116	117	111	112	102	182	185	224	250	181	174	173
E	91	89	85	86	82	164	156	188	164	161	161	162
F	92	90	87	89	98	148	137	218	184	164	163	162
G	89	89	86	86	85	104	118	106	133	110	108	110
H	92	88	84	85	89	109	99	100	101	103	98	99

Mean of twelfth column = 156.75

Protocol nr:

~~XXXXXXXXXX~~ P21

Virusisolatie MKZ op VN<sub>2</sub>

passage buizen

Paraaf uitvoerder:  
Paraaf beoordelaar:

Datum inzetten

: 23.03.01

Datum aflezen

Aangelegd met batch

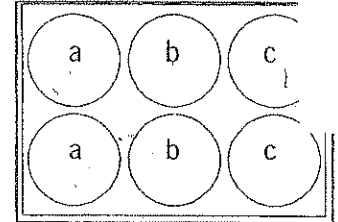
Platen/buizen aangelegd d.d.

: 22.03.01

Conditie monolayer (inzetten test)

: 40 % confluent

Opmerkingen



Plaat	Positie	DBL nummer / OSM	Monster soort	CPE 1 <sup>e</sup> pasage (+/-)	IDAS 1 <sup>e</sup> passage (+/-)	CPE 2 <sup>e</sup> pasage (+/-)	IDAS 2 <sup>e</sup> passage (+/-)	Uitslag
①	a	[Redacted]	blaar / heparine	[Redacted]	[Redacted]	[Redacted]	[Redacted]	[Redacted]
	b <sup>1/2</sup>		blaar / heparine					
	c <sup>1</sup>		blaar / heparine					
②	a <sup>1/2</sup>	01.26 1A	blaar / heparine A2 = 01.26 1B / 1C			⊖		
	b <sup>1/2</sup>	01.26 2A (2B)	blaar / heparine B2 = 01.27			⊖		
	c <sup>1</sup>	[Redacted]	blaar / heparine	[Redacted]	[Redacted]	[Redacted]	[Redacted]	[Redacted]
a <sup>1</sup>	[Redacted]	blaar / heparine						
b <sup>1</sup>	[Redacted]	blaar / heparine						
③	c <sup>1</sup>	[Redacted]	blaar / heparine	[Redacted]	[Redacted]	[Redacted]	[Redacted]	[Redacted]
	a <sup>1</sup>	[Redacted]	blaar / heparine					
	b <sup>1</sup>	[Redacted]	blaar / heparine					
④	c <sup>1</sup>	[Redacted]	blaar / heparine	[Redacted]	[Redacted]	[Redacted]	[Redacted]	[Redacted]
	a <sup>1</sup>	[Redacted]	blaar / heparine					
	b <sup>1/2</sup>	[Redacted]	blaar / heparine					
	c <sup>1/2</sup>	[Redacted]	blaar / heparine					

Protocol nr: P24

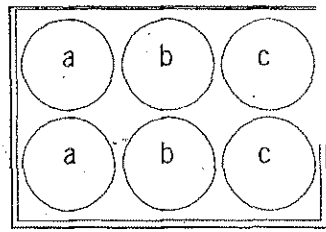
Paraaf uitvoerder: *KM*  
 Paraaf beoordelaar: *[Signature]*

H1

Virusisolatie MKZ op VN<sub>2</sub>

Datum inzetten : 25/03/01  
 Datum aflezen : 26/03 of 27/03  
 Aangelegd met batch : 24/03  
 Platen/buizen aangelegd d.d. : 24/03  
 Conditie monolayer (inzetten test) : 50 % confluent  
 Opmerkingen : *Onb MATERIAAL opnieuw INGEZET*

*ALLES VIA 0.2 µm filter, SEMALUG Hep.*  
*(27/03)*



Plaat	Positie	DSU nummer	Monster soort	CPE 1 <sup>e</sup> pasage (+/-)	IDAS 1 <sup>e</sup> passage (+/-)	CPE 2 <sup>e</sup> pasage (+/-)	IDAS 2 <sup>e</sup> passage (+/-)	Uitslag
6 <i>1</i>	a	[Shaded]	blaar / heparine	[Shaded]	[Shaded]	[Shaded]	[Shaded]	[Shaded]
	b		blaar / heparine					
	c		blaar / heparine					
7 <i>2</i>	a		blaar / heparine					
	b		blaar / heparine					
	c		blaar / heparine					
8 <i>3</i>	a		blaar / heparine					
	b		blaar / heparine					
	c		blaar / heparine					
9 <i>4</i>	a	<i>01.26</i> 1	blaar / heparine	- ⊖ ⊖ -	<i>7 pot → 26.1</i>			<i>wel apart</i> <i>(26.1 wel apart)</i>
	b	<i>01.26</i> 2	blaar / heparine	- ⊖ ⊖ -				
	c	<i>01.26</i> 3	blaar / heparine	⊖ ⊖				

*(16<sup>00</sup> - 17<sup>00</sup>)*

Protocol nr:

*Ply*

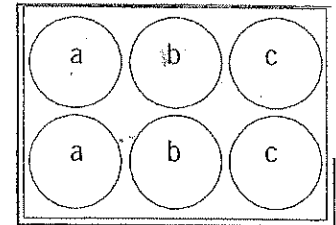
Paraaf uitvoerder:  
Paraaf beoordelaar:

FS

Virusisolatie MKZ op VN<sub>2</sub>

Datum inzetten :  
Datum aflezen :  
Aangelegd met batch :  
Platen/buizen aangelegd d.d. :  
Conditie monolayer (inzetten test) :  
Opmerkingen :

% confluent



*4/3*



Plaat	Positie	DSU nummer	Monster soort	CPE 1 <sup>e</sup> pasage (+/-)	IDAS 1 <sup>e</sup> passage (+/-)	CPE 2 <sup>e</sup> pasage (+/-)	IDAS 2 <sup>e</sup> passage (+/-)	Uitslag
<i>10</i>	a	<i>0.26 4</i>	<del>blaar</del> / heparine	<i>0 0 3 p d</i>		<i>} up ne p30</i>		
	b	<i>neg</i>	blaar / heparine					
	c	<i>neg</i>	blaar / heparine					
<b>2</b>	a		blaar / heparine					
	b		blaar / heparine					
	c		blaar / heparine					
<b>3</b>	a		blaar / heparine					
	b		blaar / heparine					
	c		blaar / heparine					
<b>4</b>	a		blaar / heparine					
	b		blaar / heparine					
	c		blaar / heparine					



G1

### MKZ IDAS-ELISA Werkprotocol

Protocol nr : 01.27  
Datum test : 27-03-01.  
Naam uitvoerder : XXXXXXXXXX  
Datum coating ELISA plaat : 28-03-01  
Lotnr. Rabbit anti Guinea-pig Peroxidase : 111000

Paraaf uitvoerder:   
Paraaf beoordelaar: 

Type	Controle antigeen (verduunnings reeks) (batch nr.)	Rabbit anti MKZ (1:1000) (batch nr.)	Guinea-pig anti MKZ (1:500) (batch nr.)	Titer controle antigeen
A <sub>10</sub>	<del>                    </del>	<del>                    </del>	<del>                    </del>	<del>                    </del>
O <sub>1</sub>	1:10000	<del>                    </del>	<del>                    </del>	<del>                    </del>
C <sub>1</sub>	<del>                    </del>	<del>                    </del>	<del>                    </del>	<del>                    </del>
SAT-1	<del>                    </del>	<del>                    </del>	<del>                    </del>	<del>                    </del>
SAT-2	<del>                    </del>	<del>                    </del>	<del>                    </del>	<del>                    </del>
SAT-3	<del>                    </del>	<del>                    </del>	<del>                    </del>	<del>                    </del>
Asia-1	<del>                    </del>	<del>                    </del>	<del>                    </del>	<del>                    </del>
SVD	1:100	<del>                    </del>	<del>                    </del>	<del>                    </del>

Mon ster	Omschrijving	Plaat	Positie	Resultaat (Type)	Opmerkingen
1	p. 26.1	BRD gill	↓ 1		neg.
2	p. 26.2-4	1	FCH 1-3		neg.
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					



G3

ID-Lelystad

Date:17-01-2001

Type of test:idas 270301 (01-27)

Number of plates = 4

Filter: 492nm.

Saved Filename:270301pm

Blank correction = 0

Cut-off value = 0

PLATE NUMBER 1

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	80	88	78	83	88	85	82	96	82	82	95	80
B	2371	2196	1657	144	1266	823	550	123	117	116	113	129
C	96	81	79	110	85	78	92	86	83	83	80	81
D	1273	802	477	105	312	219	160	133	108	87	86	104
E	89	76	76	80	84	78	77	82	79	82	80	81
F	110	107	107	123	127	122	111	120	111	109	106	127
G	77	76	78	81	91	83	79	83	77	78	77	77
H	89	90	89	111	97	91	88	107	90	91	89	122

Mean of twelfth column = 100.125

G4

## PLATE NUMBER 2

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	86	88	85	87	79	107	81	77	78	79	82	79
B	679	675	252	271	314	152	126	132	112	108	110	128
C	79	78	82	96	135	254	198	276	136	80	80	83
D	262	85	89	102	90	95	182	340	226	91	90	104
E	82	81	168	113	105	79	92	138	111	81	83	83
F	108	109	115	125	108	248	108	146	151	197	108	128
G	94	85	81	83	82	94	82	113	431	91	112	98
H	91	90	84	96	92	89	93	93	87	132	151	105

Mean of twelfth column = 101

## PLATE NUMBER 3

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	77	76	80	88	78	83	81	85	82	81	79	88
B	105	106	113	125	104	116	105	113	804	838	270	115
C	82	77	83	96	137	84	84	87	77	84	78	82
D	85	88	84	190	181	85	88	109	534	562	217	94
E	77	74	75	80	120	132	84	87	91	82	86	102
F	230	231	132	116	733	772	241	145	128	127	141	124
G	79	83	79	88	77	88	193	132	85	82	82	82
H	93	91	89	96	93	97	99	89	96	90	91	93

Mean of twelfth column = 97.5

G5

PLATE NUMBER 4

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	84	85	81	86	80	80	90	79	85	88	81	88
B	107	115	116	119	2455	2531	1733	125	126	113	120	117
C	85	100	96	88	81	87	107	111	89	84	65	85
D	96	100	99	96	92	111	99	96	89	96	91	98
E	81	85	87	85	82	81	79	80	86	103	83	90
F	117	121	122	116	116	121	127	121	109	167	114	126
G	40	41	40	38	38	38	38	38	39	38	42	41
H	72	78	79	81	74	76	79	82	76	86	50	52

Mean of twelfth column = 87.12499

Protocol nr: P30

= 2<sup>e</sup> passage vanaf P24/P25

Paraaf uitvoerder:  
Paraaf beoordeelaar:

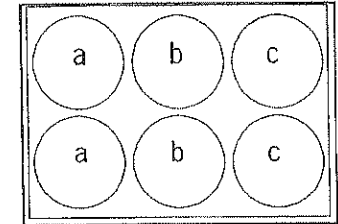
I

Virusisolatie MKZ op VN<sub>2</sub> / LM<sub>2</sub>

Datum inzetten  
Datum aflezen  
Aangelegd met batch  
Platen/buizen aangelegd d.d.  
Conditie monolayer (inzetten test)  
Opmerkingen

: 27/3/03  
: 28-29/03/01  
: VM2 25/3 ; LM2 26/3  
: 20 > % confluent


⊕ overlay gebouwt.



Plaat	Positie	DSU nummer	Monster soort	CPE 1 <sup>e</sup> pasage (+/-) 24 h	CPE 1 <sup>e</sup> pasage (+/-) 48 h	CPE 1 <sup>e</sup> pasage (+/-) 24 h	CPE 1 <sup>e</sup> pasage (+/-) 48 h	IDAS protocol nummer, uitslag
VM 1	a	26.1 hep / 29-1/6 hep	blaar / heparine	⊕				
	b	26.2-4 / 29 ong	blaar / heparine	⊕				
	c	[redacted]	blaar / heparine	⊕				
LM 2	a	[redacted]	blaar / heparine	-				
	b	[redacted]	blaar / heparine	-				
	c	[redacted]	blaar / heparine	-				
VM 3	a	[redacted]	blaar / heparine	⊕				
	b	als LM1	blaar / heparine	-				
	c	[redacted]	blaar / heparine	⊕				
VM 4	a	[redacted]	blaar / heparine	-				
	b	als LM2	blaar / heparine	-				
	c	[redacted]	blaar / heparine	-				

MKZ IDAS-ELISA Werkprotocol

Protocol nr : 01.29  
 Datum test : 28-03-01  
 Naam uitvoerder :   
 Datum coating ELISA plaat :   
 Lotnr. Rabbit anti Guinea-pig Peroxidase :

Paraaf uitvoerder: MK/MLM  
 Paraaf beoordelaar:   


Type	Controle antigeen (verdunnings reeks) (batch nr.)	Rabbit anti MKZ (1:1000) coat (batch nr.)	Guinea-pig anti MKZ (1:500) 2 ab (batch nr.)	Titer controle antigeen
A <sub>10</sub>				
(O <sub>1</sub> )	onv 2 4 8 16 32			
C <sub>1</sub>				
SAT-1				
SAT-2				
SAT-3				
Asia-1				
(SVD)	onv 2 4 8 16 32			

Mon ster	Omschrijving	Plaat	Positie	Resultaat (Type)	Opmerkingen
1					
2	26-1 30-1-A1	1	1-3 C+D	POS	als 1 = koetswiesbroek
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10	blaar stallen	2	g-11C+D	POS	dierproef (26-1)
11					↑ pr. nr
12					
13				LM	(dier 3947)
14					
15					





ID-Lelystad

13

Date:17-01-2001

Type of test:IDAS29

Number of plates = 2

Filter: 492nm.

Saved Filename:2803011m

Blank correction = 0

Cut-off value = 0

PLATE NUMBER 1

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1886	1434	959	68	737	507	352	74	1258	1426	536	80
B	1061	610	361	52	221	123	82	50	47	47	46	44
C	412	433	174	69	85	72	72	74	74	78	71	75
D	48	52	48	53	46	47	109	50	44	44	43	47
E	30	36	32	29	29	33	30	32	33	32	30	32
F	26	30	30	30	33	28	31	36	34	31	32	32
G	30	29	30	27	27	31	31	31	31	31	35	36
H	29	35	32	31	31	31	30	31	34	34	33	34


Mean of twelfth column = 47.50001

## PLATE NUMBER 2

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	78	69	62	66	62	69	65	71	67	73	71	70
B	51	54	84	52	49	48	49	49	46	51	51	57
C	123	141	96	94	71	68	71	79	2466	2543	2158	73
D	71	78	52	112	93	48	63	75	53	48	63	59
E	33	31	30	28	27	29	27	33	32	30	29	32
F	32	31	30	29	29	31	31	31	29	29	30	30
G	32	27	30	30	32	30	32	30	30	30	31	30
H	35	32	31	28	30	22	27	28	29	31	32	32

Mean of twelfth column = 47.875

MKZ IDAS-ELISA Werkprotocol


Protocol nr : 01-31-①  
 Datum test : 290301  
 Naam uitvoerder :   
 Datum coating ELISA plaat : 280301  
 Lotnr. Rabbit anti Guinea-pig Peroxidase :

Paraaf uitvoerder: *LM*  
 Paraaf beoordelaar: *Ⓟ*

Type	Controle antigeen (verdunnings reeks) (batch nr.)	Rabbit anti MKZ (1:1000) (batch nr.)	Guinea-pig anti MKZ (1:500) (batch nr.)	Titer controle antigeen
<i>A<sub>0</sub></i>	<i>0 248 1632 x</i>	<i>10000 x</i>		
<i>B<sub>0</sub></i>	<i>SVD 0 248 1632 x</i>	<i>40 x</i>		
<i>C<sub>1</sub></i>				
<i>SAT-1</i>				
<i>SAT-2</i>				
<i>SAT-3</i>				
<i>Asla-1</i>				
<i>SVD</i>				

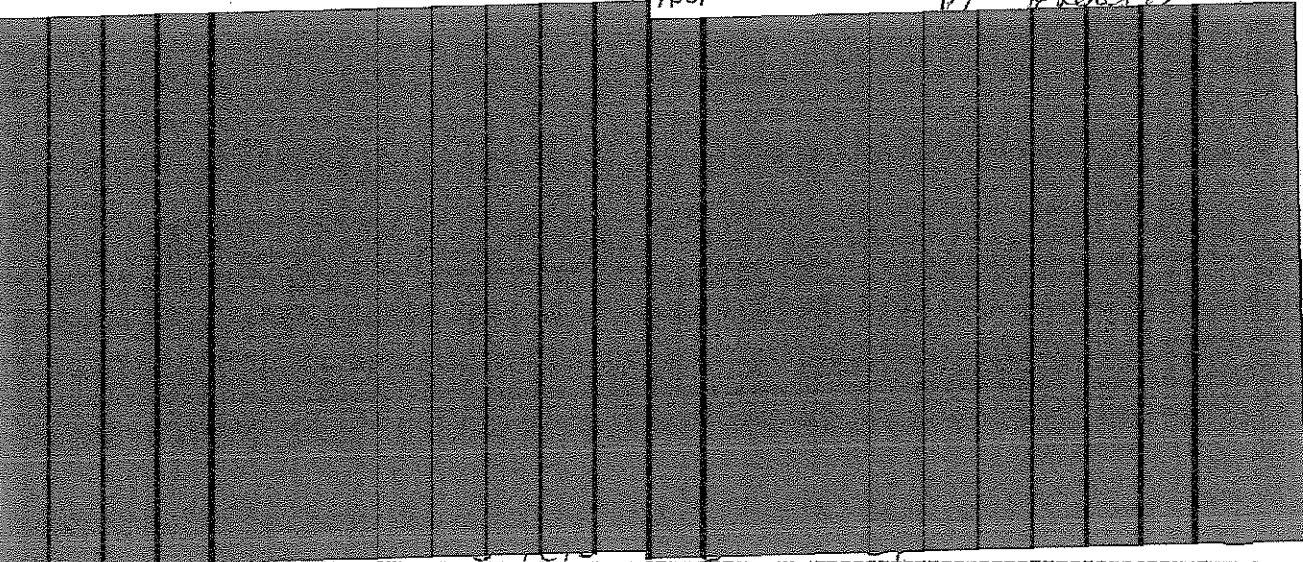

Mon ster	Omschrijving	Plaat	Positie	Resultaat (Type)	Opmerkingen
1					<i>protocol ne (VII)</i>
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					

MKZ IDAS-ELISA Werkprotocol

Protocol nr : 01-31-<sup>vv</sup>(2)  
 Datum test : 290301  
 Naam uitvoerder :   
 Datum coating ELISA plaat : 280301  
 Lotnr. Rabbit anti Guinea-pig Peroxidase :

Paraaf uitvoerder: *lm*  
 Paraaf beoordelaar: *Ch*

Type	Controle antigeen (verduunnings reeks) (batch nr.)	Rabbit anti MKZ (1:1000) (batch nr.)	Guinea-pig anti MKZ (1:500) (batch nr.)	Titer controle antigeen
A <sub>10</sub> O	-----	-----	-----	-----
O <sub>1</sub> SVD	-----	-----	-----	-----
C <sub>1</sub>	-----	-----	-----	-----
SAT-1	-----	-----	-----	-----
SAT-2	-----	-----	-----	-----
SAT-3	-----	-----	-----	-----
Asia-1	-----	-----	-----	-----
SVD	-----	-----	-----	-----

Mon ster	Omschrijving	Plaat	Positie	Resultaat (Type)	Opmerkingen							
16	1				<i>Vi - protocol</i>							
17	2											
18	3											
19	4											
20	5											
21	6											
22	7											
23	8											
24	9											
25	10											
26	11											
27	12											
28	13					P30-1 at 26.1hep	S	9-11C+D	POS	1	30	overlay
29	14											1:1 verdund in v.m.
30	15											

MKZ IDAS-ELISA Werkprotocol

Protocol nr : 01-31-③  
 Datum test : 200301  
 Naam uitvoerder : ██████████  
 Datum coating ELISA plaat : 200301  
 Lotnr. Rabbit anti Guinea-pig Peroxidase :

Paraaf uitvoerder: *lm*  
 Paraaf beoordelaar: *Q*

Type	Controle antigeen (verdunnings reeks) (batch nr.)	Rabbit anti MKZ (1:1000) (batch nr.)	Guinea-pig anti MKZ (1:500) (batch nr.)	Titer controle antigeen
<i>A<sub>10</sub> 0</i>				
<i>0<sub>1</sub> SVD</i>				
<i>E<sub>1</sub></i>				
SAT-1				
SAT-2				
SAT-3				
Asia-1				
SVD				

Mon ster	Omschrijving	Plaat	Positie	Resultaat (Type)	Opmerkingen
31	<i>0</i>				<i>VI°-protocol</i>
32					
33					
34					
35					
36					
37					
38					
39					
10					
11					
12					
13					
14					
15					





## ID-Lelystad

Date:18-01-2001

Type of test:IDAS30

Number of plates = 7

Filter: 492nm.

Saved Filename:290301lm

Blank correction = 0

Cut-off value = 0

## PLATE NUMBER 1

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	2090	1685	1284	81	947	677	406	93	88	92	82	99
B	1224	699	417	67	258	191	120	65	67	63	56	72
C	164	162	74	76	96	102	79	80	79	82	77	93
D	51	54	51	62	59	58	55	63	58	54	57	70
E	31	33	31	33	32	38	28	28	30	31	30	25
F	30	32	31	31	30	29	28	29	32	31	32	30
G	35	32	33	32	31	30	31	31	29	26	31	36
H	36	33	31	35	31	31	31	30	31	31	30	30

Mean of twelfth column = 56.875



## PLATE NUMBER 2

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	70	71	72	83	847	897	266	86	77	76	82	101
B	55	59	65	69	61	58	58	63	58	56	57	72
C	69	71	66	81	69	71	85	79	78	78	75	91
D	56	54	58	57	59	58	61	67	59	56	56	66
E	28	31	31	25	30	31	30	30	17	22	20	30
F	30	29	31	30	29	29	30	26	29	28	29	27
G	28	30	28	32	29	29	31	15	31	27	29	30
H	30	30	31	31	31	31	30	29	29	31	29	31

Mean of twelfth column = 56

## PLATE NUMBER 3

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	59	64	65	86	68	70	74	91	78	75	80	99
B	52	54	55	73	55	55	59	74	57	56	56	77
C	60	60	64	83	69	72	72	86	79	74	77	98
D	50	53	54	71	60	54	52	72	54	54	59	83
E	30	31	31	30	31	31	30	29	30	30	29	31
F	31	30	31	32	30	27	29	26	27	26	30	19
G	33	26	30	31	28	32	31	32	19	30	30	29
H	30	29	28	31	30	27	26	30	20	31	30	34

Mean of twelfth column = 58.75

PLATE NUMBER 4

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	69	65	90	90	77	79	82	106	78	137	82	98
B	54	50	51	79	67	62	76	79	58	203	56	72
C	61	65	65	84	81	77	74	87	78	82	44	94
D	59	66	59	75	60	57	55	63	58	70	53	67
E	28	24	19	30	31	30	26	25	31	29	30	28
F	27	29	31	29	31	24	27	28	49	30	29	23
G	29	31	31	31	29	28	42	17	30	24	29	29
H	31	30	32	29	30	30	18	21	30	31	31	29

Mean of twelfth column = 55

PLATE NUMBER 5

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	65	67	65	79	71	74	75	95	85	83	85	103
B	57	58	56	71	60	62	61	71	65	58	56	77
C	1920	1917	1345	78	112	118	88	91	2394	2340	1307	99
D	57	56	57	69	52	59	57	69	62	53	67	73
E	28	23	30	29	27	26	24	34	26	29	33	26
F	29	28	30	22	33	33	21	31	27	28	28	30
G	20	27	23	30	29	26	29	31	30	30	31	30
H	29	26	30	31	30	32	24	30	30	30	30	28

Mean of twelfth column = 58.25

## PLATE NUMBER 6

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	67	69	84	94	74	82	91	100	82	89	95	105
B	57	58	69	83	61	57	70	78	59	67	70	78
C	1729	1862	811	90	74	79	92	97	83	85	94	102
D	56	62	64	77	57	55	64	71	56	60	68	76
E	31	30	31	31	31	31	30	30	29	31	33	29
F	46	31	30	30	34	30	30	30	27	30	24	29
G	39	31	31	31	31	31	31	31	32	31	31	29
H	32	31	31	30	32	30	32	30	30	31	23	30

Mean of twelfth column = 59.74999

## PLATE NUMBER 7

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	65	66	84	91	69	73	90	94	85	87	98	100
B	64	71	66	90	58	63	72	72	71	58	69	74
C	65	68	83	82	68	73	87	95	79	93	98	95
D	66	67	67	74	56	59	68	72	54	58	74	74
E	28	23	29	30	31	31	29	30	30	30	28	31
F	29	30	30	33	30	30	30	29	31	29	30	31
G	30	31	32	30	30	31	31	32	31	30	31	31
H	31	31	31	40	26	29	31	34	34	31	31	31

Mean of twelfth column = 58.37499

K1

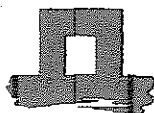


mkz, zoo - ob

ID-LELYSTAD INSTITUUT VOOR DIERGEZONDHEID

0320238854

WAGENINGEN UR



ID-LELYSTAD

Faxbericht / speed

AAN	TER ATTENTIE VAN	FAXNUMMER
RVV centraal	Drs. P. van de Wal	070 3578377
VAN	DOORWIESNUMMER	FAXNUMMER DIRECT
Aldo Dekker	238858	238668
E-MAIL		TOTAAL AANTAL PAG. (INCL. DEZE)
A.Dekker@id.wag-ur.nl		2
DATUM	ONDERWERP	
28-03-2001	MKZ verdenking	

Beste Peter,

Monsters aangeboden via RVV aan ID-Lelystad  
 Bedrijf: TEUNISSEN M., KERKWIJG 7, 3774BR KOOTWYKERBROEK

Monsters ingestuurd op naam van bovengenoemd bedrijf zijn  
 POSITIEF bevonden in de virus isolatie op cellen, in een rund en door middel van RT-PCR, voor mond en klauwzeer.  
 RVV dieridentificatienr.: zie bijgevoegde bloedtaplijst

Met vriendelijke groet,

Aldo Dekker  
 Divisie WDT

Cc. H. de Vries, A. Bianchi

ID-Lelystad, Instituut voor  
 Dierhouderij en  
 Diergezondheid BV  
 Postbus 65  
 8200 AB Lelystad

BEZOEKADRES  
 Houtribweg 39  
 8221 RA Lelystad

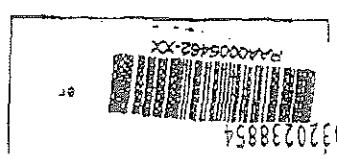
TELEFOON  
 (0320) 23 82 38  
 FAX  
 (0320) 23 86 68  
 INTERNET  
 www.id.wageningen-ur.nl

Wageningen UR  
 (Wageningen Universiteit &  
 Researchcentrum) is een  
 samenwerkingsverband  
 tussen DLO en Wageningen  
 Universiteit.

RIJSHILFENRUM 10:019



**BLOEDTAPLIJST**



Aantal ontvangen monsters: 5  
 Invullen door LAB  
ST 8235

UBN-nummer achteraan  
 of RBD-aflezer plaatsen.  
 (ook op de kopieën!)  
 Naam bodijn

12/11/71  
Tenkinkens

De monsters zijn verk  
 zegeld met het volgende  
 nummer  
05450

Buisnr	Stal	Alt.	Maknr.	Dienummer	Opm.
1					2575 2857 1
2					
3					2942 7657
4					
5					0897 7005
6					
7					0009 9075 17
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					
21					
22					
23					
24					
25					
26					
27					
28					
29					
30					
31					
32					
33					
34					
35					
36					
37					
38					
39					
40					
41					
42					
43					
44					
45					
46					
47					
48					
49					
50					
51					
52					
53					
54					
55					
56					
57					
58					
59					
60					
61					
62					
63					
64					
65					
66					
67					
68					
69					
70					
71					
72					