

# Effektivisering av Salmonellakontroll i nötkreatursbesättningar

## BAKGRUND

Salmonellos är en av de viktigaste bakteriella diarrésjukdomarna hos människor. Tack vare det svenska salmonellakontroll-programmet har Sverige ett mycket gott salmonella-läge hos djur. Den pågående strukturrationaliseringen riskerar dock att fördyra salmonellakontrollen. Det finns därför ett behov av att effektivisera och anpassa kontrollen till nya produktionsformer.

Det finns mer än 2000 olika serotyper av salmonella och de flesta kan infektera människa. *Salmonella* Dublin är den serotyp som är vanligast hos nötkreatur och Typhimurium är den näst vanligaste. Dublin är adapterad till nötkreatur, vissa djur kan bli kroniskt infekterade s.k. ”kroniker” vilket ökar risken att smittan persisterar i besättning. Salmonella kan orsaka kostsamma sjukdomsutbrott i nötkreatursbesättningar och det är framför allt unga djur insjuknar [1].

Bakteriologisk undersökning används för att påvisa salmonella i det svenska salmonellakontrollprogrammet. Testen påvisar alla serotyper men eftersom utsöndringen av bakterien i träck varierar är testens känslighet (sensitivitet<sup>1</sup>) låg för individuella djur [2]. På besättningsnivå d.v.s. för att identifiera smittade besättningar fungerar dock testen tillfredställande<sup>2</sup>. Serologiska tester<sup>3</sup> för salmonella hos nötkreatur finns [1] och en kommersiell har nyligen lanserats. Fördelen med serologiska tester är att de är billiga och kan användas både på individnivå (blod- eller mjölkprov) och besättningsnivå (tankmjölksprov (TMP)) och eventuellt kan de också användas för att påvisa kroniker [1]. Nackdelen är att de bara påvisar de serotyper som har de antigen som ingår i testen och att de inte påvisar om djuret, vid provtagningstillfället, är infekterat med *Salmonella* utan de påvisar om antikroppar mot *Salmonella* finns hos djuret, dvs om djuret varit exponerat för salmonella för mer än två till tre veckor sedan. Sensitivitet och specificitet<sup>4</sup> på den danska in-house ELISAn på individnivå anges variera mellan 20-80% och specificiteten mellan 90-100% [1]. För en tankmjölks-ELISA [3, 4] var motsvarande siffror 54-76 % respektive 98-100 %.

Eftersom nötkreatur är reservoar för Dublin, är det sannolikt möjligt att kunna eliminera Dublin från mjölkproducerande besättningar. Dessa tankegångar ligger bakom det danska kontrollprogrammet för Dublin i mjölkbesättningar som implementerades 2002. I programmet används en tankmjölks-ELISA för att påvisa antikroppar mot ffa mot Dublin. Testen korsreagerar med vissa Typhimurium och vissa andra serotyper d.v.s. påvisar alltså även antikroppar mot vissa andra serotyper [5]. En ”bredare” ELISA (Mixed-ELISA) som även påvisar Typhimurium har också tagits fram, men används inte inom det danska programmet.

## PROBLEMBESKRIVNING OCH SYFTEN

Studien var indelad i fem delar vars övergripande syfte var att generera kunskap om hur salmonellakontrollen i nötkreatursbesättningar kan effektiviseras.

Del I. Effektivisering av smittspårning - Testning av flera mjölkbesättningar

---

<sup>1</sup> Andel infekterade djur som är testpositiva.

<sup>2</sup> Om alla djuren i en besättning testas är ju chansen större att minst ett av alla infekterade djur påvisas än när enstaka djur testas.

<sup>3</sup> Tester som påvisar antikroppar

<sup>4</sup> Andel icke infekterade djur som är testnegativa.

Smittkällan till salmonellasmittade besättningar påvisas sällan. Av kostnads skäl görs bakteriologiska undersökningar bara i besättningar som bedöms vara de mest sannolika smittkällorna. Syftet var att utvärdera om en billigare test (tankmjölks-ELISA) kan effektivisera smittspårningen genom att ett större antal mjölkbesättningar kan testas.

Del II. Effektivisering av smittspårning – Ökning av sannolikheten att påvisa smittade besättningar  
Sensitiviteten på tankmjölks-ELISA är relativt låg. Syftet var att utvärdera om en kombination av tester (TMP och blod/mjolk-tester på individuella djur) ökar sannolikheten att identifiera smittade besättningar jämfört med enbart TMP.

Del III. Preliminär utvärdering av tankmjölks-ELISAns sensitivitet och specificitet  
Tester bör utvärderas på den population som de ska används i (del II och del V). Syftet var att göra en grov skattning av tankmjölks-ELISAns sensitivitet och specificitet där ”guld standard” var bakteriologisk undersökning av hela besättningen.

Del IV. Salmonella-prevalensstudie  
Prevalensen av smittade mjölkbesättningar är okänd. Syftet var att klarlägga prevalensen - mjölkbesättningar som har antikroppar mot Dublin respektive Typhimurium.

Del V. Fördjupad utvärdering av tankmjölks-ELISAns specificitet  
Syftet var att beräkna tankmjölks-ELISAns specificitet under svenska förhållanden.

Del VI. Effektiviserad sanering av Dublin- och Typhimurium-smittade besättningar  
Det finns ett behov att effektivisera saneringar (del VI och VII). Syftet var att bedöma om serologiska tester kan effektivisera saneringen av smittade besättningar.

Del VII. Saneringsstrategier i moderna produktionssystem  
Syftet var att identifiera faktorer som kan påverka spärrtidens längd i samband med Salmonella sanering samt att undersöka om smittskyddsaspekter vägs in vid planering av om- och nybyggnation av djurstallar för nötkreatur.

## **MATERIAL OCH METODER**

### Bakteriologisk och serologisk undersökning

Mjolk och serumprov analyserades med en indirekt in-house ELISA i Danmark [6]. I senare delen av studien skedde analys vid Statens veterinärmedicinska Anstalt (SVA) med PrioCHECK® Salmonella Ab bovine Dublin respektive PrioCHECK® Salmonella Ab bovine, eftersom rätten till testerna sålts till Prionics för kommersialisering. Den danska in-house-ELISAn och PrioCHECK® Salmonella Ab bovine Dublin påvisar antikroppar ffa mot Dublin (O-grupper 1,9,12). PrioCHECK® Salmonella Ab bovine påvisar även Typhimurium och andra serotyper med O-antigen som ingår i testen (O 1,4,5,9 och 12). Gränsvärdet för en positiv test var  $ODC\% \geq 55$  för den danska in-house ELISAn och  $ODC\% \geq 35$  för Prionics tester. I denna rapport kallas in-house ELISAn i Danmark och PrioCHECK® Salmonella Ab bovine Dublin gemensamt för ”Dublin-ELISA” och PrioCHECK® Salmonella Ab bovine för ”Mixed-ELISA”.

Eftersom Prionics testen inte fanns tillgänglig i studiens första delar jämfördes den danska in-house ELISAn med PrioCHECK® Salmonella Ab bovine Dublin. Sammanlagt utvaldes 603 av de 1068 prov som ingick i delstudie IV samt alla sera med höga ODC-värden i den danska in-house ELISAn (n=8). Resultaten illustrerades grafiskt samt korrelationen mellan ODC-värden beräknades. Korrelationen mellan ODC värdena i den danska in-house ELISAn och PrioCHECK® Salmonella Ab bovine Dublin var 0,92 och även diagram visade en god överensstämmelse. Två prov tolkade som gråzon i den danska in-house ELISAn var negativa i den andra testen. Testerna visade en god överensstämmelse varför resultaten av dessa två tester redovisas gemensamt som Dublin-ELISA.

Bakteriologiska undersökningar av träckprov har utförts vid SVA enligt MSRV Iso 6579 annex D.

Del I. Effektivisering av smittspårning-Testning av flera mjölkbesättningar

Vid smittspårningar av Dublin och Typhimurium-infekterade nötbесättningar under perioden 2007-10-15 -2009-08-31, undersöktes alla mjölkbesättningar med TMP (med Dublin eller Mixed-ELISA) d.v.s. även mjölkbesättningar där misstanken var så låg att en bakteriologisk undersökning inte gjordes av SJV.

Del II. Effektivisering av smittspårning – Ökning av sannolikheten att påvisa smittade besättningar  
I mjölkbesättningar där salmonella påvisats vid odling och TMP uttagits, uttogs, i samband med spärr, mjölk- eller blodprov från nötkreatur som var eller nyligen hade varit sjuka med symptom som kunde vara orsakade av *Salmonella* samt blodprov från kalvgrupper: 30 kalvar i åldrar 4-6 månader och om färre än 30 kalvar fanns provtogs samtliga kalvar.

Del III Preliminär utvärdering av tankmjölks-ELISAns sensitivitet och specificitet:

I mjölkbesättningar där hela besättningen undersökts med bakteriologisk odling, uttogs TMP och analyserades med Dublin-ELISAn.

Delprojekt IV: Salmonella-prevalensstudie

Från 2007 års nationella tankmjölksprovtagning valdes vart 6:e prov ut. Proven analyserades med Dublin-ELISA och om tillräckligt material fanns analyserades de även med Mixed-ELISA.

Delprojekt V: Fördjupad utvärdering av tankmjölks-ELISAns specificitet

Resultaten från del IV användes för beräkning av tankmjölks-ELISAns specificitet. Genom att anta att alla positiva prover var falskt positiva beräknades den undre gränsen för testens specificitet.

Delprojekt VI: Effektiviserad sanering av Dublin- och Typhimurium-smittade besättningar

I salmonellasmittade mjölkbesättningar uttogs, i samband med spärr, blodprov från kalvgrupper (se del II). Uppföljande provtagningar skedde på kalvgrupper födda efter insatta hygienåtgärder. TMP samt individuella blod- eller mjölkprov togs från vuxna djur samt från ungdjur i relevanta besättningar. Omfattningen av provtagning bestämdes av SVA och varierade beroende på fas i saneringsarbete och smittläge i besättningen.

Delprojekt VII: Saneringsstrategier i moderna produktionssystem

Saneringsplaner för mjölkbesättningar spärrade under perioden 2006-2008 studerades med avseende på salmonellatyp, besättningsstorlek, stallsystem, utfodringssystem, möjlighet att sektionera, kalvhållning inklusive kalvningsrutiner samt spärrtidens längd. Effekten på spärrtidens längd testades med Fishers exakt test för de variabler som var möjliga att kategorisera. Intervjuer genomfördes med personer med erfarenhet av salmonellasanering och de svarade på vilka faktorer de ansåg vara av betydelse för spärrtidens längd. Intervjuer genomfördes även med personer med erfarenheter inom planering av stallbyggnader och de fick svara på hur smittskyddsaspekter vägs in vid om- och nybyggnation av djurstallar.

## RESULTAT

Del I. Effektivisering av smittspårning - Testning av flera mjölkbesättningar

Tankmjölksprov erhöles från 67 kontaktbesättningar till 8 spärrade besättningar (Tab 1). Bakteriologisk undersökning hade gjorts på 38 av dessa och två var positiva. En av dessa påvisades med TMP. Inga falska positiva resultat erhöles, d.v.s. besättningar där ingen smitta påvisades var också negativa i TMP. Ytterligare 3 besättningar i smittspårningen var

bakteriologiskt positiva men dessa var köttbesättningar och kunde därför inte undersökas med TMP.

Tabell 1. Besättningar spärrade för Dublin eller Typhimurium, tankmjölksprovs (TMP)-resultat och resultat från bakteriologisk undersökning för provtagna kontaktbesättningar.

Primärbesättning	Bes. typ	Salmonella typ	Antal kända kontaktbesättningar	TMP positiva av antal TMP undersökta	Bakt. positiva av antal bakt. undersökta
1: A	Mjöl	Dublin	4	0/4	Ej testade
2: K	Mjöl	Typhimurium	10	0/4	1 (köttg.)/9
3: O	Kött	Dublin	43 (alla mjöl)	1/43	1/1
4: P	Kött	Dublin	5	0/3	1 (mjölg.)/5
5: E	Mjöl	Dublin	9	0/3	0/8
6: J	Mjöl	Dublin	4	0/2	1 (köttg.)/3
7: C	Mjöl	Dublin	1	0/0	1 (köttg.)/2
8: B	Mjöl	Dublin	26	0/8	0/10

köttg=besättning med kött, mjölg=besättning med mjölk

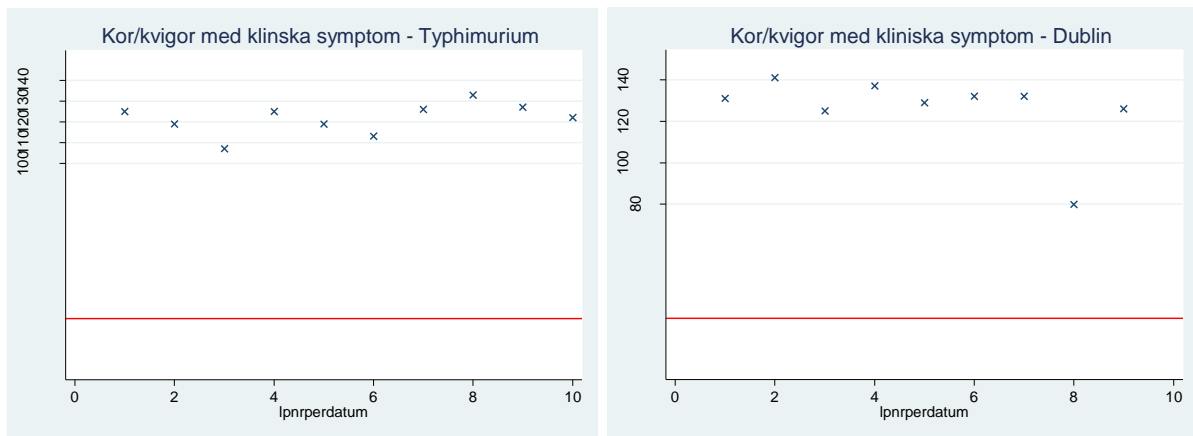
Del II: Effektiviserad smittspårning-Ökning av sannolikheten att påvisa smittade besättningar  
Nio av de 14 besättningar där salmonella påvisats bakteriologiskt inkluderades i denna del (Tab. 2). I alla besättningar där TMP var positivt fanns det även positiva kalvar. De tre besättningar där både TMP och kalvprover var negativa bedömdes (baserad på annan information) ha ingen ( $n=1$ ) eller mycket låg ( $n=2$ ) förekomst av salmonella vid provtagningstillfället. Fem av 8 infekterade besättningar påvisades alltså med TMP och 6 av 8 med en kombination av TMP med provtagning på kalvar.

Tabell 2. Resultat från analys av antikroppar mot Dublin och eller Typhimurium i tankmjölksprov (TMP) eller sera från kalvar.

Besättning	TMP pos/neg	Andel positiva kalvar	Antal provtagna kalvar
N	Neg	0	23
J	Neg	0	27
M	Neg	0	29
E	Neg	70%	23
K	Pos	23%	31
F	Pos	33%	9
C	Pos	40%	30
L	Pos	87%	15
B	Pos	88%	25

Kliniska symptom förekom i nio av de 14 besättningarna. I sju besättningar var bara kalvar sjuka, i en var både kalvar och äldre djur sjuka och i en var det bara kvigor eller kor som var sjuka. Samtliga kor/kvigor som varit kliniskt sjuka var kraftigt positiva i serologiska tester där 19 av 20 provtagna djur hade ODC värden över 100 (Fig.1).

Figur 1. Resultat av serologisk undersökning av nio kor och kvigor som kastat och/eller haft diarré i en Typhimurium - och en Dublin -smittad mjölkbesättning (besättning B och L). Resultaten visar ODC-värde samt löpnummer på korna. Rekommenderad cut-off är 35.



#### Del III. Preliminär utvärdering av tankmjölks-ELISAns sensitivitet och specificitet

Sammanlagt 11 besättningar inkluderades i denna del. Sex besättningar var bakteriologiskt positiva (Dublin) och 4 av dessa hade positivt TMP. Fem besättningar var bakteriologiskt negativa och alla hade negativt TMP. Sensitiviteten för TMP blev 66,7% (95%-KI: 22,3-95,7%) och specificiteten 100% (ensidigt 97,5%-KI:47,8-100,0%).

#### Del IV. Salmonella-prevalensstudie

Totalt 1068 TMP analyserades med i Dublin-ELISAn och 6 var positiva. Detta gav en synbar prevalens (apparent prevalence) på 0,6 %. Hansa husdjur hade en högre andel positiva TMP än övriga husdjursföreningar 3,2 % (5/138). Totalt 917 prov analyserades med Mixed-ELISAn och 16 var positiva (1,7 %). De 6 positiva i Dublin proverna ingick i dessa 16. Tio av de 16 besättningarna var negativa i Dublin-ELISAn och bedömdes ha antikroppar mot Typhimurium eller andra serotyper med O-antigen som ingår i testen, vilket motsvarar en prevalens på 1,1 % (10/917). Dessa 10 besättningar hade en annorlunda geografisk fördelning än Dublinbesättningarna.

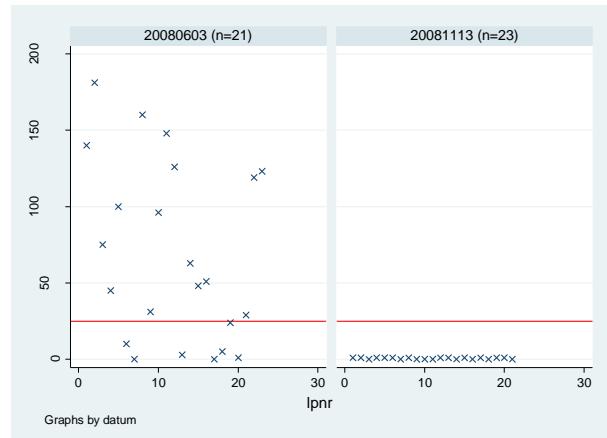
#### Del V. Fördjupad utvärdering av tankmjölks-ELISAns specificitet

Totalt 6 av 1068 prov var positiva i Dublin-ELISAn vilket gav en undre gräns för specificiteten på 99,4% (95 % -KI: 98,7-99,7%). I Mixed-ELISAn var 16 av 917 prov positiva vilket gav en undre gräns för specificiteten på 98,2% (95 % KI. 97,1%-99,0%).

#### Del VI: Effektiviserad sanering av smittade besättningar

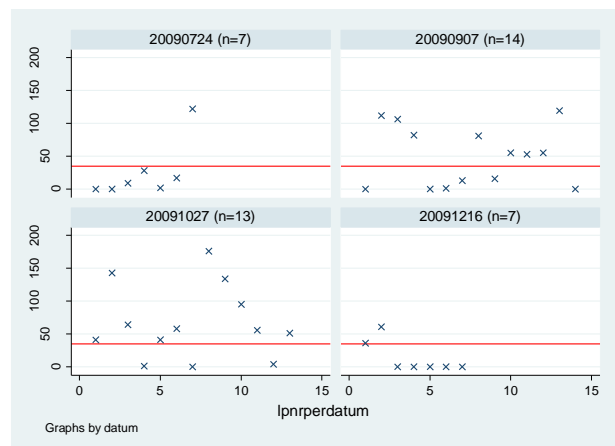
Sammanlagt 14 smittade besättningar ingick i denna studie, 10 var smittade med Dublin och 4 med Typhimurium. I en av de Dublin-smittade besättningarna påvisades, innan spärren släpptes, även Typhimurium. I fem besättningar, alla infekterade med Dublin, genomfördes minst två provtagningar av kalvar och i samtliga fem var kalvar positiva vid den initiala provtagningen. I fyra av dessa har de kalvgrupper som provtagits efter insatta saneringsåtgärder varit negativa. Resultaten från besättning E visas i figur 2.

Figur 2. Resultat av serologisk undersökning av kalvgrupper i en Dublinsmittad mjölkbesättning (besättning E). Provtagning skedde vid två tillfällen, före respektive efter insatta saneringsåtgärder. Resultat visar ODC-värde på individuella prov samt löpnummer på proverna. Rekommenderad cut-off är 35. Resultaten visar att smittspridning till kalvarna har brutits.



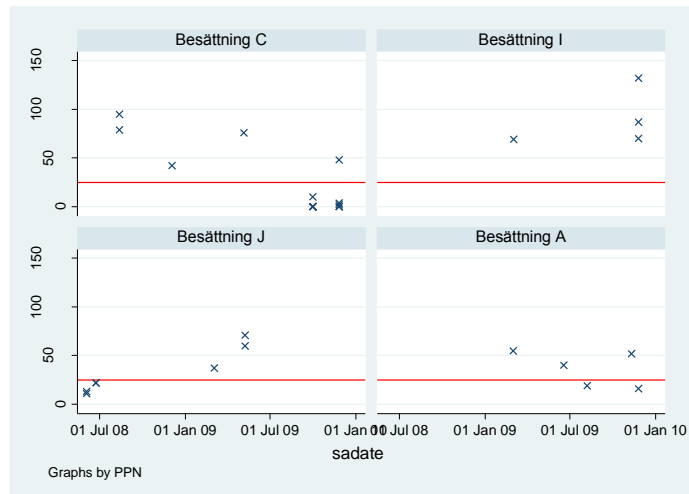
En av dessa fyra besättningar (A) hade varit spärrad i över ett år, saneringsåtgärder var insatta sedan länge och upprepade bakteriologiska undersökningar av kalvar hade varit negativa vilket tolkats som att insatta åtgärder varit effektiva. Vid den sista provtagningen var dock en kalv bakteriologiskt positiv och en serologisk undersökning (den första i den besättningen) visade att en stor andel (7/12, 58%) var positiva. Detta visade tydligt att insatta åtgärder var bristfälliga. Bland annat avskiljdes kalvar från kon direkt efter kalvning, men tolkningen av ”direkt” varierade från några timmar (veterinärens tolkning) till några dagar (djurägaren/djurskötarens tolkning). Resultaten av serologin gjorde det uppenbart att brister förelåg och underlättade därför identifieringen av bristerna. Upprepade provtagningar visade att antikroppshalterna sjönk och provtagna kalvgrupper blev till slut negativa. I den femte besättningen (I) påvisades antikroppar vid upprepade provtagningar av kalvgrupper trots insatta saneringsåtgärder (Fig. 3). Denna besättning hade baserat på bakteriologisk provtagning bedömts vara fri från *Salmonella* och spärren hade därför hävts.

Figur 3. Resultat av serologisk undersökning av kalvgrupper i en Dublinsmittad mjölkbesättning (I). Provtagning skedde vid fyra provtagningstillfällen, varav två var i samband med respektive efter det att spärren släpptes. Resultat visar ODC-värden på provtagna kalvar. Rekommenderad cut-off är 35.



Provtagning av ungdjursgrupper skedde i två besättningar och speglade vilka grupper som varit exponerade för smittan. Provtagning av vuxna djur skedde i två besättningar. Inget samband sågs mellan resultat av TMP och om Dublin påvisats i träckprover från ko-gruppen (eller besättningen). Upprepade tankmjölksprov i 4 besättningar visade en sjunkande antikroppshalt i en besättning (C), vilket visar att insatta åtgärder i denna besättning varit effektiva (Fig. 4).

Figur 4. Resultat av upprepade TMP i fyra Dublinsmittade besättningar. Resultat visar ODC-värde samt provtagningsdatum. Rekommenderad cut-off är 35.



#### Delprojekt VII: Saneringsstrategier i moderna produktionssystem

Totalt 28 saneringsplaner studerades. Besättningar med mer än 100 kor hade oftare en spärrtid > 6 månader jämfört med mindre besättningar ( $p=0,045$ ) och besättningar med mer än 200 kor hade oftare en spärrtid > 12 månader jämfört med mindre besättningar ( $p=0,0049$ ). Utöver detta sågs en tendens att Dublin-infekterade besättningar hade längre spärrtider jämfört med besättningar infekterade med andra serotyper ( $p=0,09$ ). I besättningar med ett högre smittryck (>5%) vid den initiala bakteriologiska provtagningen tenderade spärrtiden att oftare vara > 6 månader jämfört med besättningar med ett lägre smittryck ( $p=0,09$ ).

Vid intervjuundersökning av personer med erfarenhet av salmonellasaneringar bedömdes följande faktorer vara viktiga eller mycket viktiga för spärrtidens längd.

Tabell 3. Respondenters bedömning av vilka faktorer som är viktiga eller mycket viktiga för spärrtidens längd (totalt antal svarande)

Faktorer som kan ha betydelse för spärrtidens längd	Respondenters bedömning
Djurägarens attityd	13 (13)
Besättningens möjlighet att sektionera	12(13)
Förordnad veterinärs erfarenhet av salmonellasanering	11(13)
Djurtäthet i besättningen	11(13)
Initialt smittryck	8(13)
Kalvningsrutiner	8(13)
Salmonellaserotyp	8(13)

Vid intervjuundersökning av personer med erfarenhet från byggsidan ansåg respondenterna att smittskydd vägs in mindre vid planering av stallbyggnader för nötkreatur jämfört med andra djurslag, intresset har dock ökat något de senaste åren. Vidare ansågs det finnas regionala skillnader samt att veterinärer bör sälja in smittskyddet bättre till lantbrukarna.

#### DISKUSSION

##### Del I. Effektivisering av smittspårning - Testning av flera mjölkbesättningar

TMP bedöms vara värdefullt som ett komplement till de bakteriologiska undersökningar som SJV gör eftersom ett stort antal besättningar kan undersökas till en liten kostnad. I en utredning visade TMP undersökning att en av 43 undersökta kontaktbesättningar var smittad, men att undersöka samtliga dessa bakteriologiskt var inte ekonomiskt möjligt. I en annan utredning missade TMP att påvisa en smittad besättning vilket visar att ett enstaka TMP har

en låg sensitivitet. Sensitiviteten på testen kan ökas genom upprepade provtagningar som t.ex. sker i det danska Salmonellakontrollprogrammet [7].

Del II Effektivisering av smittspårning – Ökning av sannolikheten att påvisa smittade besättningar  
Genom att komplettera TMP med prov på kalvgrupper erhöles en högre sensitivitet vilket var väntat [4]. Fler besättningar måste dock provtas för att få en bättre skattning av hur mycket sensitiviteten ökar under svenska förhållanden och om denna ökning av sensitiviteten är rimlig i relation till den ökade kostnad det innebär att åka ut till besättningen och ta kalvprover. Det bör dock noteras att bakteriologiska undersökning av hela besättningar är avsevärt mycket dyrare än serologisk undersökning av kalvar och TMP. Det finns alltså ett fortsatt behov av att klarlägga hur kostnadseffektiva olika kombinationer av tester är. Serologisk undersökning av vuxna djur visat kliniskt symptom kan vara av värde i besättningar som t.ex. haft kastningar eftersom material för odling då ofta saknas. Men eftersom det är ovanligt att kliniska symptom bara förekommer på vuxna djur bedöms sådana undersökningar inte ha någon större betydelse i den generella salmonellaövervakningen.

Del III. Preliminär utvärdering av tankmjölks-ELISAns sensitivitet och specificitet  
Resultatet ger en indikation på testets sensitivitet när man jämför TMP-resultat med bakteriologiskt positiva besättningar, d.v.s. besättningar med en pågående salmonellainfektion. Eftersom bara ett fåtal smittade besättningar påvisades blev underlaget litet och skattningen grov. Sensitiviteten var låg vilket är i enlighet med litteraturen [3, 4]. Detta är rimligt eftersom t.ex. besättningar där smitta bara finns i kalv- och ungdjursgruppen inte påvisas med TMP. Ett större underlag behövs för att få en säkrare skattning, därför är det viktigt att fortlöpande utvärdera sensitiviteten av TMP i nya smittade mjölkbesättningar.

Del IV Salmonella-prevalensstudie  
Resultat visar att förekomsten av salmonella i svenska mjölkbesättningar i ett internationellt perspektiv är mycket låg. I Hansa husdjur var andelen positiva TMP (Dublin-ELISAn) högre. Detta stämmer väl med resultaten från den screening som gjordes av samtliga mjölkbesättningar på Öland 2009 där en synbar prevalens på 16% påvisades vilket kan jämföras med 0,6% i hela landet som påvisades i denna studien. Den sanna prevalensen besättningar med pågående infektion kan vara både högre eller lägre. Den kan vara högre eftersom testen har en låg sensitivitet (se del III). Prevalensen kan också vara lägre eftersom antikroppar kan finnas kvar hos de mjölkande korna trots att smittan eliminerats [1]. Andelen besättningar med antikroppar mot Typhimurium var också låg (1,1%). Den geografiska fördelningen skiljer sig från besättningar med antikroppar mot Dublin vilket kan indikera att dessa serotyper har olika epidemiologi. Ytterligare epidemiologiska undersökningar bör göras för att klarlägga vilken betydelse detta kan ha för hur prevention och bekämpning ska utformas på ett optimalt sätt.

Del V. Fördjupad utvärdering av tankmjölks-ELISAns specificitet  
Specificiteten för Dublin-ELISAn var hög. Mixed-ELISAn, som påvisar flera serotyper, hade en något lägre specificitet. Det angivna sättet att beräkna specificitet ger ett ”worst scenario”, d.v.s. specificiteten är *minst* den som angivits men sannolikt är den mycket högre. Om man t.ex. antar att hälften av de positiva är sant positiva så ökar specificiteten för Dublin-ELISAn från 99,4 till 99,7% d.v.s. < 3 per 1000 besättningar kan få ett falskt positivt resultat. För Mixed-ELISAn ökar den från 98,2 till 99,1% d.v.s. < 9 per 1000 besättningar kan få ett falskt positivt resultat. Ytterligare undersökningar behöver göras för att klarlägga hur stor andel av alla positiva som kan förväntas vara falsk positiva. Specificiteten är tillräckligt hög för att testerna ska kunna användas för att screena ett stort antal besättningar. Kompletterande tester bör dock göras av positiva prov innan en fullständig bakteriologisk undersökning görs (vilket görs vid misstanke om salmonella).



#### Del VI: Effektiviserad sanering av smittade besättningar

Serologisk undersökning av kalvgrupper visade på ett effektivare och billigare sätt än bakteriologi om insatta åtgärder för att bryta smittspridning till kalvar varit effektiva. Detta var speciellt tydligt i två besättningar. I en (A) visade upprepade bakteriologiska undersökningar att insatta åtgärder varit effektiva medan serologi visade att en stor andel av kalvarna varit exponerade för salmonella. I besättning (I) indikerar serologin att smittan fanns kvar i besättningen trots att spärren släppts på grund av att de bakteriologiska undersökningarna varit negativa. Baserat på resultat i denna studie används kalvprovtagningar redan idag i en del spärrade besättningar. Men eftersom negativa kalvprover vid ett enstaka tillfälle även kan förekomma i infekterade besättningar rekommenderas att provtagning sker kontinuerligt under hela spärrtiden på nya kalvgrupper. Individuell serologisk undersökning av ungdjur och kor kan användas för att bedöma om djurgrupper som är/har varit avskiljda har exponerats för smitta, dvs om delar av en besättning inte är smittad eller om sektionering för att bryta smittkedja lyckats. TMP kan användas i samma syfte men är mindre känsligt eftersom enstaka djur kan missas. Trots detta är upprepade TMP ett kostnadseffektivt sätt att, mera långsiktigt, följa om saneringen lyckats. Speciellt i stora besättningar med svåra, dyra och långvariga saneringar bör detta vara värdefullt. Eftersom antikroppar mot Dublin kvarstår under lång tid kommer antikroppshalten att minska över tiden vilket skedde i en av de 4 besättningar där upprepade TMP tagits (Fig. 4). I en av besättningarna har antikropps-nivån ökat påtagligt vilket indikerar att infektion finns kvar i besättningen. Det är dock i nuläget oklart hur länge antikroppar finns kvar hos korna efter genomgången infektion/lyft spärr. I Danmark används individuell serologi på vuxna djur där ODC-värde plottas mot ålder. Om infektionen eliminerats från besättningen kommer bara äldre djur att vara positiva. I besättningar där endast enstaka kor kvarstår positiva under lång tid kan utslaktning av dessa övervägas, (alternativt särskilda rutiner kring kalvning) för att minska risken för kvarstående kroniker i besättningen som kan starta nya smittcykler.

#### Delprojekt VII: Saneringsstrategier i moderna produktionssystem

Större besättningar hade signifikant längre spärrtid, vilket stämmer överens med en tidigare studie på nötkreatur [8]. Dublininfektioner tenderade att ha längre spärrtider. Detta synes vara rimligt eftersom denna serotyp är adapterad till nötkreatur och kan resultera i kroniskt infekterade individer som kan vara svåra att påvisa och därmed utgöra en kvarvarande smittkälla i besättningen. Vidare har initialt smittryck en tendens att vara korrelerat till spärrtidens längd. Detta visar på vikten av en tidig upptäckt innan smittan hunnit sprida sig i hela besättningen. I intervjuundersökningen av personer med erfarenhet av saneringar bedöms djurägarens attityd samt förordnad veterinärs erfarenhet av salmonellasanering vara mycket viktiga. Att så är fallet visar också praktiska erfarenheter från det danska Dublin kontrollprogrammet. Det är alltså mycket viktigt att skapa incitament så att samtliga aktörer vid saneringar har en hög motivation. Besättningens möjlighet att sektionera, djurtäthet i besättningen och kalvningsrutiner är faktorer som också bedömdes vara viktiga och här kan möjligheter till förbättringar finnas t.ex. inom det frivilliga salmonellakontrollprogrammet. Från intervjuer med byggplanerare framgår att smittskydd är en fråga som behöver lyftas och där samarbete mellan flera yrkeskategorier måste till, helst redan på planeringsstadiet. Ytterligare studier behöver göras för att man med större säkerhet ska kunna identifiera betydelsefulla faktorer i saneringsarbetet avseende salmonella. Dessa studier kan sedan ligga till grund för råd för sanering och för planering, förprovning och granskning av djurstallar.

## **PUBLIKATIONER**

Nyman, A., Ågren, E., Wahlström, H., 2009. Prevalence of Salmonella Dublin antibody positive Swedish dairy herds, The Society for Veterinary Epidemiology and Preventive Medicine, 1-3rd April 2009 Liverpool.

Nyman, A-K., Ågren, E., Bergström, K., Widgren, S., Wahlström, H., 2009. Evaluation of serology as a complement to bacteriology in identifying Salmonella Dublin positive dairy herds. MedVetNet 5<sup>th</sup> Annual Scientific Conference 3-6 June 2009, Madrid, Spain.

Bengtsson, J. 2009. Kartläggning av stallbyggnader och djurhållningssystem inom mjölkproduktion ur salmonellasynpunkt. Examensarbete inom veterinärprogrammet. <http://www.bib.slu.se>

## **ÖVRIG RESULTATFÖRMEDLING TILL NÄRINGEN**

Salmonella Dublin hos nötkreatur i Sverige-situationsbeskrivning. Möte med näringen och myndigheter 2009-05-07 samt 2009-12-16.

Informationsmöte om serologiska tester för mjölkproducenter på Öland samband med serologisk screening av samtliga mjölkbesättningar på Öland (Projekt ÖIDub) 2009.

## **ÖVRIGT**

Resultat av studien kommer att redovisas på det Nordiska Zoonoscentermötet i Reykavik den 8-11 juni 2010.

Resultat av studien avses att publiceras i två internationella vetenskapliga tidskrifter.

”Utvärdering av förenklad sanering med hjälp av serologiska tester” är ett projekt som kommer att genomföras i samarbete med SJV.

”Antikroppsundersökningar i mjölkbesättningar med Salmonella” Ett PM till myndigheter och näringen är under utarbetande.

Som en fortsättning på detta projekt har en ansökan gjorts till SLF mjölk, om ett doktorandprojekt ”Kostnadseffektivisering av salmonellakontrollen i svenska mjölkbesättningar”.

## **REFERENSER**

1.Rosenbaum Nielsen L: Salmonella Dublin in Dairy cattle-Use of diagnostic tests for investigation of riskfactors and infection dynamics. PhD Thesis. Royal Veterinary and Agricultural University, Dept Of Animal Science and Animal health; 2003.

2.Nielsen LR, Toft N, Ersboll AK: Evaluation of an indirect serum ELISA and a bacteriological faecal culture test for diagnosis of Salmonella serotype Dublin in cattle using latent class models. J Appl Microbiol 2004, 96:311-319.

3.Veling J, van Zijderveld FG, van Zijderveld-van Bommel AM, Schukken YH, Barkema HW: Evaluation of two enzyme-linked immunosorbent assays for detecting Salmonella enterica subsp. enterica Serovar Dublin antibodies in bulk milk. Clin Diagn Lab Immunol 2001, 8:1049-1055.

4.Veling J, Barkema HW, van der Schans J, van Zijderveld F, Verhoeff J: Herd-level diagnosis for Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin infection in bovine dairy herds. Prev Vet Med 2002, 53:31-42.

5.Konrad H, Smith BP, Dilling GW, House JK: Production of Salmonella serogroup D (O9)-specific enzyme-linked immunosorbent assay antigen. Am J Vet Res 1994, 55:1647-1651.

6.Hoorfar J, Lind P, Bitsch V: Evaluation of an O antigen enzyme-linked immunosorbent assay for screening of milk samples for Salmonella dublin infection in dairy herds. Can J Vet Res 1995, 59:142-148.

7.Development and estimation of the effect of new methods and strategies for surveillance of Salmonella in cattle <http://www.dfvf.dk>

8.Boqvist S, Vagsholm I: Risk factors for hazard of release from salmonella-control restriction on Swedish cattle farms from 1993 to 2002. Prev Vet Med 2005, 71:35-44.