

Salmonellasmitta i rasthagar - praktisk handledning för marksanering

Karin Nyberg, Björn Vinnerås och Ann Albihn
Statens Veterinärmedicinska Anstalt, Uppsala

Bakgrund

Salmonella är en tarmlevande bakterie som orsakar magsjuka och ibland även andra allvarliga symptom hos den infekterade, ofta med kraftig diarré som följd. Infektion med salmonella är ett vanligt förekommande fenomen hos såväl djur som människor. Salmonella är dessutom en zoonotisk infektion, vilket innebär att den smittar mellan djur och människor.

Salmonellainfektion hos häst är relativt ovanligt i Sverige och övriga Norden, med endast några rapporterade fall per år, men det finns en risk att förekomsten ökar i framtiden. På Island har det under senare år skett ett antal större utbrott av Salmonella. Det som var ovanligt i dessa fall var att det även orsakade hög dödlighet hos vuxna hästar (personlig kommunikation). Annars är det i regel så att vuxna hästar oftast är endast bärare av salmonella utan att i sig vara sjuka, men om föl blir infekterade kan de drabbas av allvarliga symptom som i värsta fall kan leda till döden (Clarce och Gyles, 1993). Eftersom hästar hanteras mycket, även av barn, så kan salmonellasmitta bland hästar få allvarliga konsekvenser även ur ett folkhälsoperspektiv (Sanchez m.fl. 2002).

Generellt sett föreligger det en ökad risk för salmonellainfektion i stallar med hög genomströmning av hästar, såsom stuterier, träningsanläggningar eller i stall där hästarna transporterats internationellt. Salmonellabakterien utsöndras i träck från infekterade djur och den vanligaste smittvägen är att djuret får i sig bakterien oralt. Dagens rekommendationer är att sjuka djur hålls separerade från övriga och att hagarna där djuren gått hålls tomma till dess att de förklarats fria från smitta. Många stallar har begränsad tillgång till mark, vilket ofta leder till små och hårt nyttjade rasthagar och liten möjlighet för tomhållning. Om hagarna dessutom inte mockas regelbundet skapas en kraftigt gödselbemängd och upptrampad mark vilken kan bli en viktig reservoar för salmonellabakterier (Jensen m.fl. 2006). Det finns då även en risk för spridning av smitta till andra hästar och vidare till miljön.

Salmonella i miljön har god förmåga till överlevnad och kan under gynnsamma förhållanden även tillväxa (Mitscherlich och Marth, 1984). Vid SVA har under senare år utförts forskning om överlevnaden av salmonella i olika miljöer, bland annat i mark och gödsel. Ett forskningsprojekt, finansierat av Myndigheten för samhällsskydd och beredskap (MSB), har studerat överlevnaden av salmonella i olika agrara fältjordar i lysimetrar (jordpluggar, placerade utomhus men separerade från omkringliggande miljö) och visat att salmonella tillförd i gödsel kan överleva i mer än 6 månader i marken (Nyberg m.fl. 2010). Överlevnaden av salmonella var korrelerad till i vilket gödselmedel salmonellabakterien tillförts jorden, och längst överlevnad påvisades i det gödselmedel med högst organisk halt. Dock har det framkommit att det saknas mycket kunskap om hur länge salmonella kan finnas kvar i den markmiljö som karakteriserar hästrasthagar och hur man ska gå tillväga med rasthagarna för att bryta smittspridningen av salmonella till nya hästar och till miljön.

Ett sätt att avdöda salmonellabakterier är behandling med släckt kalk (kalciumhydroxid, $\text{Ca}(\text{OH})_2$). Detta brukar rekommenderas vid bland annat sanering av kontaminerat gödsel eller i rötslam (Bennet m.fl. 2003; Wong och Selvam, 2009; National Lime Association, 2010). En

tillsats av släckt kalk ger en snabb höjning av pH-värdet vilket inaktiverar de sjukdomsframkallande mikroorganismerna. Det krävs dock att det höga pH-värdet uppehålls under en viss minsta behandlingstid för att inte bakterier såsom salmonella ska få möjlighet att återväxa i materialet. Efter kalkning sjunker pH-nivån successivt och kommer slutligen att normaliseras, men hur lång tid detta tar beror på hur mycket kalk som tillsätts och hur bra buffringsförmåga materialet som kalkats har (Tullander, 1982). Fram till att pH normaliserats är det viktigt att tomhålla hagen, dels p.g.a. smittrisk men även p.g.a. risken för frätskador på hästarnas hud och hovar.

Under 2008 genomfördes ett projekt finansierat av Stiftelsen Hästforskning, vid namn "Salmonellasmitta i hästrasthagar – smittspridare till hästar och miljö" (Albihn m.fl. 2008; Nyberg m.fl. 2011). Resultaten därifrån visade på att behandling med släckt kalk kan fungera som en effektiv saneringsmetod för behandling av salmonellakontaminerad hästgödselbemängd jord. Flera parametrar av vikt för en fungerande inaktivering av salmonella påvisades, bland annat mängden tillsatt kalk och hur kalken applicerades till den salmonellakontaminerade jord/gödselblandningen. Behandlingen med släckt kalk var endast effektiv mot salmonella om en så pass stor mängd kalk tillsattes så att pH höjdes till över 11. För att undvika återväxt av salmonella måste detta höga pH bibehållas under ca 7 dagars tid. Noggrann inblandning av kalken visade sig också vara av vikt, så att ett högt pH erhöles i hela det salmonellakontaminerade materialet.

För att minska praktiska problem när kalkningen ska utföras i verkliga rasthagar måste rekommendationer för hantering och behandling av smittade rasthagar utarbetas. Dessa rekommendationer bör baseras på olika kalkningstekniker som har testats och utvärderas utomhus i större skala. Det aktuella projektet har haft som målsättning att ta fram underlag som kan fungera som stöd till hästnäringen och rådgivande myndigheter vid hantering och sanering av salmonellaförorenade rasthagar. Effekten av olika kalkhalter och appliceringstekniker testats med avseende på pH samt på avdödning av salmonella- och indikatorbakterier i olika skalor utomhus. Följande delförsök har ingått i projektet:

1. Olika appliceringstekniker för sanering av salmonellakontaminerad mark – pH-studier i fält.
2. Olika koncentrationer av tillsatt kalk – pH- samt avdödningsstudier av indikatorbakterier i fält.
3. Kalkningens avdödande effekt på salmonella och indikatorbakterier – studier i lysimetrar utomhus.

Material och metoder

Olika appliceringstekniker för sanering av salmonellakontaminerad mark – pH-studier i fält

I detta delförsök har effekten av tre olika metoder för inarbetning av släckt kalk i jord utvärderas. Försöket har utförts i en tomhållen hästrasthage som upplåtits av Jälla naturbruksgymnasium i Uppsala och marken bestod av upptrampad jord med hästgödsel. I rasthagen placerades 16 stycken försöksrutor à 2x2 meter ut med hjälp av tältpinnar och snören, och vilken ruta som får vilken behandling valdes slumpvis ut med hjälp av slumpgenerator i Excel (Figur 1). Kalk till en koncentration av 2,5 kg/m² tillsattes alla rutor, utom de som skulle fungera som negativ kontroll, och målsättningen var att kalken skulle inkorporeras till ett djup av 10 cm. Följande fyra appliceringstekniker ingick i försöket:

- A. Inblandning av kalk genom jordbearbetning. Släckt kalk appliceras i pulverform direkt på marken och inarbetning sker mekaniskt och maskinellt med hjälp av en jordfräs.
- B. Inblandning av kalk genom bevattning. Släckt kalk appliceras i pulverform direkt på marken och inarbetning sker sedan genom att kalken vattnas in i marken. En vattenmängd på ca 100 mm används.
- C. Inblandning av kalk genom applicering av våtkalk (28% släckt kalk i vatten). Våtkalk appliceras direkt på marken och arbetas sedan in mekaniskt och maskinellt med hjälp av en jordfräs.
- D. Obehandlad kontroll, ingen kalktillsatts, jordbearbetning eller vattning.

1 D	2 B	3 D	4 C
5 B	6 B	7 C	8 D
9 A	10 C	11 D	12 A
13 A	14 B	15 A	16 C



Figur 1. Schematisk bild samt fotografi över de försöksrutor som märkts ut i en hästrasthage inom delförsöket "Olika appliceringstekniker för sanering av salmonellakontaminerad mark – pH studier i fält". Foto Karin Nyberg.

Efter kalkningen följde en löpande provtagning, som skedde på dag 1, 3, 7, 14, 28 och 78. Vid varje provtagning togs två stycken jordpluggar (10 cm djupa) från varje försöksruta. Jordpluggarna delades upp i två delar i samband med provtagningen så att prov från olika djup erhöles (1-5 cm samt 5-10 cm). På lab analyseras proverna med avseende på pH, torrsubbstans och organisk halt. Provens pH analyserades i avjonat vatten (1:10), torrsubbstansen efter torkning i 104°C över natt och organisk halt efter torkning vid 400°C över natt.

Olika koncentrationer tillsatt kalk – pH- samt avdödningsstudier av indikatorbakterier i fält

Detta delförsök syftar till att undersöka pH samt avdödningsstudier av indikatorbakterien *E. coli* O157:H7 i mark vid följande fyra kalkkoncentrationer:

- A. Ingen kalktillsatts, 0 kg/m²
- B. Kalktillsatts 0,5 kg/m²
- C. Kalktillsatts 1,0 kg/m²
- D. Kalktillsatts 2,0 kg/m²
- E. Våtkalk 1,0 kg/m²

Tjugo stycken försöksrutor à 2x2 meter användes, uppmätta med tältpinnar och snören på samma sätt som i delförsök 1. Rutorna var utplacerade på en harvad åker tillhörande Ultuna

egendom, söder om Uppsala (Figur 2). Innan försöksstart odlades indikatorbakterier upp i näringsbuljong. Cirka 16 timmar före planerad försöksstart vattnades 1 liter bakterielösning ut i en mindre (1x1 m) ruta, uppmätt i mitten på de större (2x2 m) försöksrutorna. Vid försöksstart applicerades de olika koncentrationerna kalk (A-E) ut över de större försöksrutorna och kalken blandades in i jorden med hjälp av en jordfräs. Rutorna frästes från lägsta till högsta kalkkoncentration för att undvika att de lägre koncentrationerna kontaminerades från jordfräsen. Sedan följde provtagning, på dag 1, 3, 7, 14, 28 och 50. Vid varje provtagning analyserades mängden indikatorbakterie enligt NMKL nr 164 2e upplagan. Dessutom analyserades markens pH, torrsubstans och organisk halt, på samma sätt som beskrivits ovan.



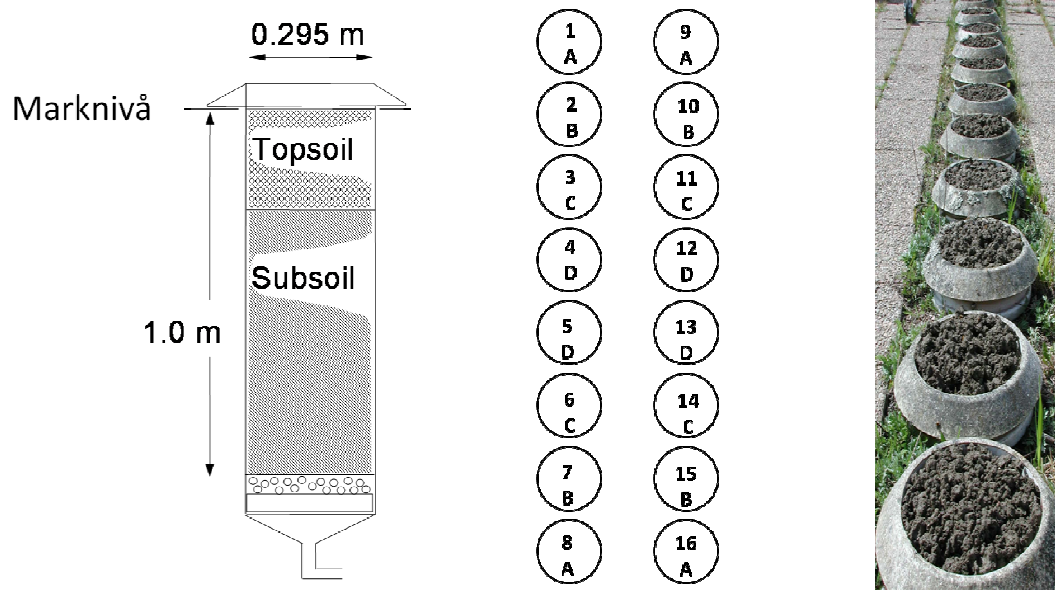
Figur 2. Schematisk bild samt fotografi över de försöksrutor som använts i studier av effekten av olika koncentrationer kalk på pH samt avdödning av indikatorbakterien *E. coli* O157:H7. Foto Karin Nyberg.

Kalkningens avdödande effekt på Salmonella indikatorbakterier – studier i lysimetrar utomhus

I detta delförsök har olika kalkkoncentrationers avdödande effekt på såväl salmonella som indikatorbakterier (*E. coli* O157:H7) studerats under fältliknande förhållanden utomhus. För att möjliggöra studier på salmonella utomhus, utan att avsiktligt sprida denna sjukdomsframkallande bakterie i miljön, har försöket utförts vid en lysimeteranläggning (Persson och Bergström 1991). En lysimeter är ett cylindriskt PVC-rör (1 meter lång med en diameter på 30 cm) som fylls med jord och sedan sänks ner i marken (Figur 3). Jorden är således separerad från omgivningen åt alla håll förutom uppåt. Genom ett slangsystem i botten av varje lysimeter ges även möjlighet att samla upp dräneringsvatten i en källare placerad under lysimeteranläggningen. De lysimetrar som använts i detta försök tillhör Sveriges lantbruksuniversitet och finns placerade på Ultuna.

Sexton stycken lysimetrar har använts (Figur 3) varav hälften var fyllda med sandjord (1-8) och resterande med lerjord (9-16). Salmonellabakterier och indikatorbakterier odlades upp över natt i näringsbuljong. Vid försöksstart grävdes det översta 5-cm lagret av jord upp från varje lysimeter (ca 3 kg) och placerades i separata plastpåsar. Till varje påse sattes 40 ml av bakterielösningen följt av noggrann inblandning. Sedan blandades släckt kalk med jorden i påsarna i koncentrationer motsvarande dem som användes i delförsök 2 (A-D). Innehållet i de olika påsarna placerades sedan ut på separata lysimetrar (Figur 3). Provtagning skedde på dag 1, 3, 7, 14, 28 och 50, och vid varje tillfälle analyserades halten bakterier samt pH, torrsubstans

och organisk halt. Mängden salmonella analyserades genom NMKL nr 71 5e upplagan. Övriga analyser utfördes enligt beskrivning ovan.

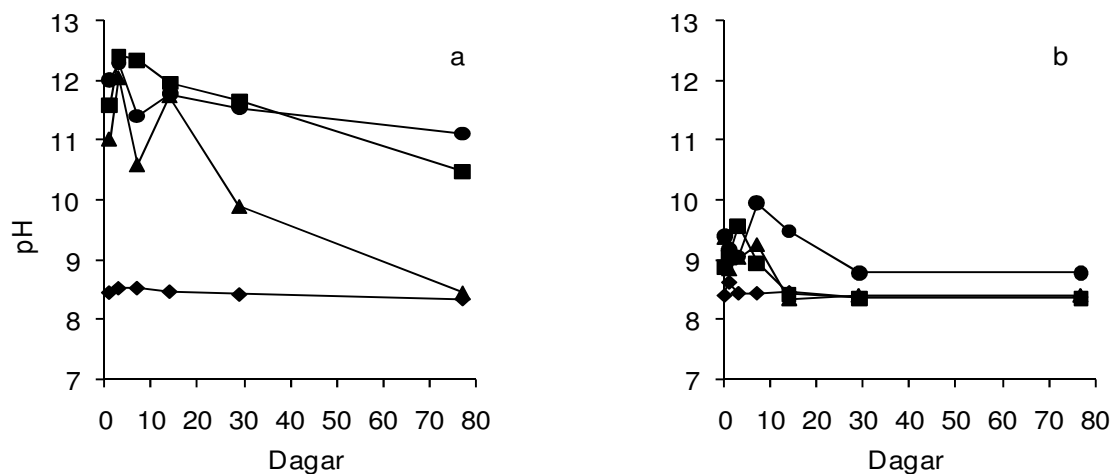


Figur 3. Bilden visar en lysimeter i genomskärning, samt en schematisk skiss och ett fotografi över lysimetrarnas placering. Lysimetern är nedsänkt i marken så att endast ytan vid toppen ligger i nivå med markytan. Foto Karin Nyberg.

Resultat

Olika appliceringstekniker för sanering av salmonellakontaminerad mark – pH-studier i fält

Det översta jordlagret (0-5 cm) i alla rutor som behandlats med kalk har fått en initial höjning av pH-värdet till över 11 jämfört med de obehandlade rutorna där pH ligger på 8.5 (Figur 4a). I det undre jordlagret (5-10 cm) har pH endast höjts till mellan 9 och 10 (Figur 4b).



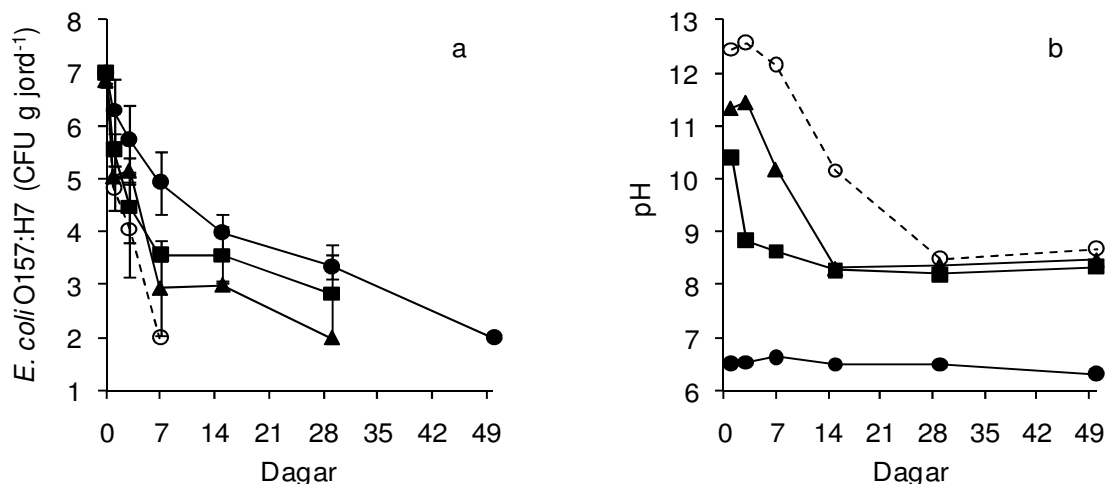
Figur 4. Figuren visar pH i mark behandlad med släckt kalk applicerad med: ● = jordfräst, ■ = vattnad, ▲ = i form av våtkalk och ◆ = ingen kalktillsats. Graf (a) visar pH i 0-5 cm djup och graf (b) visar pH i 5-10 cm djup.

I det översta jordlagret är pH fortfarande högt i alla behandlade led efter 15 dagar medan pH i det undre jordlagret har sjunkit tillbaka till den ursprungliga nivån i alla led utom de jordfrästa. I det översta 5-cm jordlagret sjunker pH i de våtkalkade rutorna mellan dag 15 och dag 78 medan det fortfarande är högt i övriga led där kalken i pulverform applicerats på marken och antingen jordfrästs eller vattnats ner. Att pH förblir högt tyder på att för mycket kalk applicerats i försöket, alternativt att otillräcklig inarbetning av kalken skett.

Olika koncentrationer av tillsatt kalk – pH- samt avdödningsstudier av indikatorbakterier i fält

Behandling med hög kalkkoncentration ($2,0 \text{ kg/m}^2$) gav en snabb reduktion av indikatorbakterien inom de första 7 dagarna av försöket (Figur 5a). Efter dag 7 skedde ingen återväxt under det 50 dagar långa försöket. Övriga kalkkoncentrationer gav också en reduktion av indikatorbakterien, även om det gick långsammare, och efter 50 dagar kunde inga bakterier detekteras i proven från de kalkade rutorna. Det har dock även skett en rätt så markant reduktion av indikatorbakterien även i de okalkade rutorna (\bullet), och vid sista provtagningen finns endast låga mängder av indikatorbakterien kvar i marken i dessa led.

De olika kalkkoncentrationerna ger upphov till ungefär en pH-enhets skillnad i initial pH-höjning (Figur 5b). Den lägsta kalktillsatsen (\blacksquare) har inte höjt pH till mer än 10.4, vilket tidigare studier visat inte vara tillräcklig för att en fullgod sanering av salmonella ska ske. För led behandlade med mellankalktillsats (\blacktriangle) är pH under gränsen för fullgod sanering vid provtagningen dag 7, medan led behandlade med hög (\circ) kalktillsats vid denna dag fortfarande ligger på ett pH högre än 12. Mellan dag 7 och 28 sjunker dock pH till en nivå mellan 8 och 9 även i de led som fått den högsta kalkkoncentrationen, och där ligger det sedan kvar försöket ut.

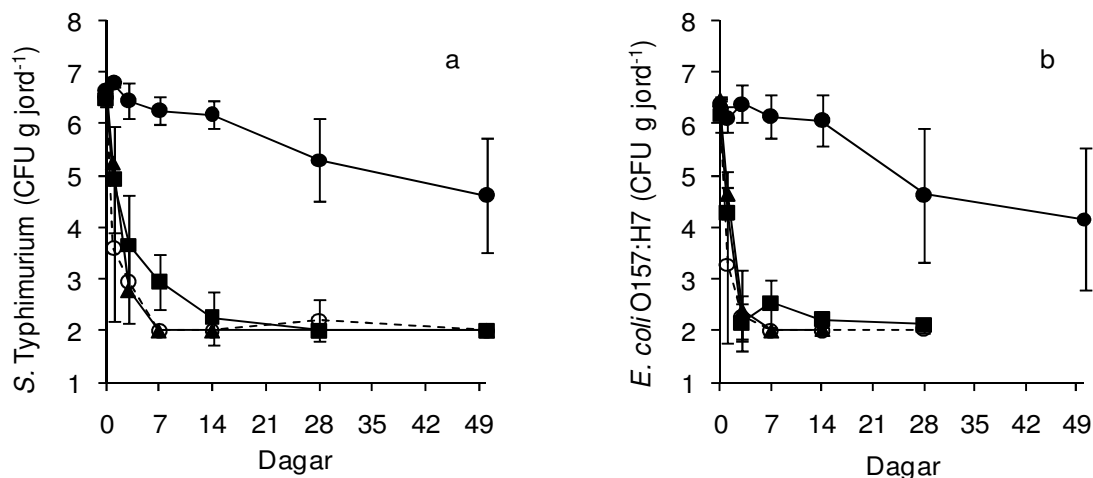


Figur 5. Figuren visar avdödningsstudien av indikatorbakterien *E. coli* O157:H7 (a) samt pH (b) i jord behandlad med olika koncentrationer kalk, \bullet = 0 kg kalk / m^2 , \blacksquare = 0.5 kg kalk / m^2 , \blacktriangle = 1 kg kalk / m^2 och \circ = 2 kg kalk / m^2

Kalkningens avdödande effekt på Salmonella indikatorbakterier – studier i lysimetrar utomhus

Både salmonella och indikatorbakterier reduceras snabbt efter kalkning, och ingen återväxt av bakterierna skedde under den 50 dagar långa försöksperioden (Figur 6). Den högsta kalkkoncentrationen ($2,0 \text{ kg/m}^2$) gav upphov till snabbast avdödning, men skillnaden var inte så stor jämfört med de rutor som fått lägre koncentration kalk. I detta försök sjönk inte bakteriehalterna lika mycket i de okalkade leden, för efter 50 dagar fanns fortfarande höga

halter av såväl salmonella som indikatorer kvar i jorden. De olika koncentrationerna kalk har också gett upphov till skillnader i pH (Tabell 1). I de led som fått 2 kg kalk /m² sjunker inte pH under 12 förrän någon gång mellan dag 14 och 28, och det led som fått 1 kg kalk /m² har ett pH över 11 till någon gång mellan dag 7 och 14. Vid sista provtagningen har pH sjunkit till ca 8.5 i alla led.



Figur 6. Figuren visar avdödningen av *Salmonella* Typhimurium (a) och indikatorbakterien *E. coli* O157:H7 (b) i jord behandlad med olika koncentrationer kalk, ● = 0 kg kalk /m², ■ = 0.5 kg kalk /m², ▲ = 1 kg kalk /m² och ○ = 2 kg kalk /m²

Tabell 1. Skillnader i pH i jord behandlad med olika koncentrationer av kalk. I de okalkade leden låg pH på ca 7.2 vid samtliga provtagningstillfällen

Kalk/m ²	Dag 1	Dag 3	Dag 7	Dag 14	Dag 28	Dag 50
0.5 kg	11.4	10.1	9.4	8.9	8.6	8.5
1 kg	12.2	11.8	11.7	10.6	8.5	8.5
2 kg	12.5	12.4	12.3	12.0	10.3	8.6

Diskussion

Inom ramen för detta projekt har olika tekniker för att sprida kalk på en markyta samt olika kalkkoncentrationers effekt på pH och avdödning av salmonella och indikatorbakterier studerats. Detta har skett genom kontrollerade försök utomhus, antingen i försöksrutor eller i lysimetrar. Målsättningen har varit att ta fram underlag som kan fungera som stöd till hästnäringen vid hantering och sanering av salmonellaförorenade rasthagar.

En hästrasthage kan se ut på många olika sätt med avseende på storlek, typ av underlag etc. Det kan även förekomma skillnader i tillgänglighet för maskinell utrustning, vilket påverkar de möjligheter man har för att kalka marken. Två alternativ att fördela kalk till en markyta är att antingen fräsa/mylla ner kalken eller att vattna ner kalken, och i det första delförsöket jämfördes dessa tekniker. Det visade sig att båda var otillräckliga och målsättningen att nå en kalkinblandning ner till 10 cm djup uppnåddes inte eftersom pH endast gick upp till de önskade nivåerna (>11) i det översta 5-cm jordlagret. Inkorporeringen av kalk misslyckades eftersom marken var torr och mycket hård. Detta resulterade även i att en alldeles för hög kalkkoncentration blev liggande på markytan, och efter 80 dagar låg pH kvar på cirka 11 i det översta lagret i två utav leden när försöket avslutades. Mängden kalk som tillsätts marken är en kritisk parameter inte enbart för avdödning utan också för hur lång tid det tar innan hagen

återigen kan tas i bruk. Innan hästar kan släppas tillbaka in i en hage måste markens pH ha neutraliserats, annars riskerar djuren att få frätskador på hovar och hud. Om en för hög kalktillsats appliceras och det tar flera månader för pH att neutraliseras kan det innebära ytterligare problem för hästhållaren, speciellt om det finns begränsningar i marktillgång. Därför är det önskvärt att optimera mängden kalk som tillsätts så att en sanering av salmonella kan ske samtidigt som pH neutraliseras inom en rimlig tid efter behandling.

Till skillnad mot det första delförsöket så var förhållandena för att inkorporera kalk i mark mycket bättre i det andra delförsöket, där olika kalkkoncentrationers effekt på pH och avdödning av indikatorbakterier studerades. I detta försök placerades försöksrutor ut på en harvad åker istället för i en riktig hästrasthage, och marken var således mycket mjukare. Genom att applicera olika mängder av kalk till marken och sedan mylla ner denna med jordfräs höjdes pH i marken i olika grad, och det gick sedan lätt att följa hur pH neutraliserades över tid. Att pH inte återgick till det ursprungliga, utan låg på ett värde mellan 8 och 9 beror på att det bildas kalciumkarbonat när kalciumhydroxid reagerar med koldioxid ifrån marken, vilket har en buffrande effekt. Ett pH på 8-9 är inte skadligt för hud och hovar hos betande hästar och bör således inte vara ett problem. Till skillnad mot tidigare studier syntes inget tydligt samband mellan pH-höjning och bakteriereduktion. Det skedde en rätt kraftig reduktion av indikatorbakterien även i de okalkade leden i detta delförsök och skillnaden mellan de två lägre tillsatserna var försumbar. Detta kan bero på att bakterierna låg på markytan och således exponerades för både solljus och temperaturväxlingar, något som i sig har en bakteriedödande effekt. Dock syntes en tydlig skillnad mellan den högsta kalkkoncentrationen och det obehandlade ledet, en vecka jämfört med 50 dagar för att avdöda alla bakterier. I en situation där man snabbt vill sanera sin hästrasthage, vid t.ex. brist i marktillgång eller om man vill minska smittspridningen till den omgivande miljön kan denna tid spela stor roll.

Till skillnad mot fältförsöket med olika kalkkoncentrationer så överlevde såväl salmonellan som indikatorbakterien mycket bättre i de okalkade leden i försöket som utfördes i lysimetrar. Skillnaden kan vara att bakterierna blandades ner i jorden istället för att vattnas ut ovanpå, vilket säkert skyddat dem mot solens UV-strålar. Ytterligare en skillnad i detta försök var att samma mängder kalk gav upphov till ett högre pH i marken i lysimeterförsöket jämfört med i fältrutorna. Detta kan bero på att en mer exakt och jämnare inkorporering kunnat ske, men även på att olika jordarter har olika buffrande förmåga och struktur. Oavsett så visade det sig att behandlingen med släckt kalk var effektiv för att avdöda den salmonella som fanns i marken. Vid rätt kalktillsats skedde avdödningen redan efter några dagar, jämfört med en överlevnad upp till flera månader utan kalktillsats (Plym-Forsell och Ekesbo, 1996; Gray och Fedorka-Cray, 2001; Nyberg m.fl. 2010). Vilken koncentration av kalk som är mest lämplig att använda sig av för att sanera en salmonellakontaminerad mark varierar dock beroende på förutsättningarna som råder i den rasthage som ska saneras. Om det är möjligt att kontrollera pH så fungerar det som ett bra mått på hur väl en sanering kan fungera. Sammanfattningsvis bör följande rekommendationer tillämpas vid kalkning av en salmonellakontaminerad hästrasthage:

- En god reduktion av salmonella är möjlig att uppnå genom kalkbehandling av det översta jordlagret i en hästrasthage.
- Innan kalkbehandling bör det gödsel som finns i hagen mockas ut och samlas upp för separat behandling, t.ex. kompostering.
- Tillsätt släckt kalk i sådan mängd att ett pH över 11 uppnås och bibehålls i ca en veckas tid. De faktiska mängder kalk som bör tillsättas varierar beroende på bl.a. jordtyp, men en tillsats på ungefär 1 kg kalk per kvadratmeter kan vara ett riktvärde.

- Det är viktigt att uppnå en pH-höjning även en bit ner i jorden för att kalkbehandlingen ska vara effektiv. Därför bör man anpassa appliceringsteknik efter hur rasthagen ser ut. Om det går att inkorporera maskinellt, t.ex. med en jordfräs eller liknande är det att föredra framför att vattna ner kalken.
- Se till att pH har sjunkit till ett värde under 9 innan hästar åter släpps in i hagen.

Publikationer och övrig resultatförmedling

Nyberg K.A., Vinnerås B. and Albiñ A. Managing *Salmonella* Typhimurium and *Escherichia coli* O157:H7 contaminated soil with hydrated lime – an outdoor study using lysimeters and field plots. Manuskript som ska skickas till tidskrift hösten 2011.

Nyberg K.A., Vinnerås B., Kjellberg E., Sternberg Lewerin S. and Albiñ A. 2011. Treatment with $\text{Ca}(\text{OH})_2$ for inactivation of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and *Enterococcus faecalis* in soil contaminated with infected horse manure. Journal of Applied Microbiology, 110:1515-1523
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21435122>

Nyberg, K., Vinnerås, B., Sternberg Lewerin, S., Kjellberg, E. and Albiñ, A. 2010. Inactivation of *Salmonella* Typhimurium in horse manure amended soils by application of $\text{Ca}(\text{OH})_2$. In: Proceedings of the International Symposium on Salmonella and Salmonellosis. St Malo, France, 28-30 June 2010.

Nyberg, K. 2009. Sanering av Salmonellasmittad mark. SVAvet nr. 2 sid. 37
http://www.sva.se/upload/pdf/Tj%c3%a4nster%20och%20produkter/Trycksaker/SVA-vet_2_09_webb.pdf

Ann Albiñ, Maria Ehrenberg, Karin Nyberg, Susanna Sternberg-Lewerin och Björn Vinnerås. Salmonella hos häst – sällsynt men besvärligt. Ridsport, avelsextra. 2008 sid. 58.
<http://www.tidningenridsport.se/Article.aspx?m=51326&m1=51405&a=73826>

Managing pathogen contaminated horse paddocks with hydrated lime as hygienic treatment NJF seminar 437, Housing and management of horses in Nordic and Baltic climate. Reykjavik, Iceland, 6-7 juni 2011

Inactivation of *Salmonella* Typhimurium in horse manure amended soils by application of $\text{Ca}(\text{OH})_2$
I3S, International Symposium on Salmonella and Salmonellosis. St Malo, France, 28-30 juni 2010.

Minskad risk för spridning av Salmonella genom hygienisk behandling av gödsel och mark
20 min presentation vid seminarium på temat Salmonella anordnat av SVA och IEE, 26 jan 2011.

Salmonellasmitta i hästrasthagar
30 min presentation vid lunchseminarium anordnat av Hippocampus, SVA/SLU, 19 nov 2009.

Projektet finns beskrivet på ett par ställen på SVAs hemsida:
<http://www.sva.se/sv/Fokusomraden1/Mijlo-och-klimat/Halsorelaterad-miljomikrobiologi/Sanering-av-Salmonellakontaminerade-hastrasthagar/>

<http://www.sva.se/sv/Forskning-och-produkter/Aktuella-forskningsprojekt/Salmonellasmitta-i-rasthagar---smittspridare-till-hastaroch-miljo/>

En referensgrupp har varit knuten till projektet och två stycken möten har hållits för gruppen (9 mars 2009 och 2 februari 2010). Referensgruppen har bestått av: Kerstin Berglund (AgrD), Mark och miljö, SLU, Harald Cederlund (PhD), Mikrobiologi, SLU, Johan Hellander (leg vet), Platschef på Menhammar Stuteri AB och Tomas Rydberg, (AgrD), Statsagronom, Mark och miljö, SLU.

Referenser

- Albihn, A., Ehrenberg, M., Nyberg, K., Sternberg-Lewerin, S. & Vinnerås, B. 2008. Salmonella hos häst – sällsynt men besvärligt. Ridsport, Avelsextra:58.
- Bennet, D.D., Higgins, S.E., Moore, R.W., Beltran, R., Caldwell, D.J., Byrd, J.A., Hargis, B.M., 2003. Effects of lime on Salmonella enteritidis survival in vitro. J. Appl. Poult. Res. 12, 65-68.
- Clarke, R.C. & Gyles, C.L. 1993. Salmonella. In: Gyles, CL, Thoen, CO (eds.) Pathogenesis of bacterial infections in animals. Iowa State University Press, Ames, pp. 133-153
- Gray, J.T., Fedorka-Cray, P.J. 2001. Survival and infectivity of Salmonella Cholerasuis in swine feces. Journal of Food Protection, 64:945-949.
- Jensen, A.N., Dalsgaard, A., Stockmarr, A., Nielsen, E.M. & Baggesen, D.L. 2006. Survival and transmission of Salmonella enterica Serovar Typhimurium in an outdoor organic pig farming environment. Appl Environ Microbiol 72: 1833-1842
- Mitscherlich, E., Marth, E.H. 1984. Microbial survival in the environment. Springer Verlag, Berlin, Germany
- National Lime Association 2010. Environmental uses of lime (Arlington, USA, http://www.lime.org/uses_of_lime/environmental/environmental.asp).
- Nyberg, K.A., Vinnerås, B., Kjellberg, E., Sternberg-Lewerin, S & Albihn, A. 2011. Treatment with Ca(OH)₂ for inactivation of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and *Enterococcus faecalis* in soil contaminated with infected horse manure. Journal of Applied Microbiology, 110:1515-1523
- Nyberg, K.A., Vinnerås, B., Ottoson, J., Aronsson, P. & A. Albihn. 2010. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Typhimurium in manure-amended soils studied in outdoor lysimeters. Applied Soil Ecology, 42:398-404
- Personlig kommunikation: Gunnar Ö Gudmundson, District Veterinary Officer, Icelandic Food and Veterinary Authority 2011-06-07.
- Persson, L. & Bergström, L. 1991. Drilling method for collection of undisturbed soil monoliths. Soil Sci Soc Am J 55, 285-287.
- Plym-Forsell, L., Ekesbo, I. 1996. Survival of Salmonella in urine and dry faeces from cattle – an experimental study. Acta Veterinaria Scandinavia. 37:127-131.
- Sanchez, S., Hofacre, C.L., Lee, M.D., Maurer, J.J. & Doyle, M.P. 2002. Animal sources of salmonellosis in humans. J Am Vet Med Ass 15: 492-497
- Tullander, V. 1982. Quicktime treatment of sludge, Disinfection of Sewage Sludge: Technical, Economic and Microbiological Aspects. Edited by A.M. Bruce, A.H. Havelaar & P. L'Hermite
- Wong, J.W.C., Selvam, A., 2009. Reduction of indicator and pathogenic microorganisms in pig manure through fly ash and lime addition during alkaline stabilization. J. Hazard. Mat. 169, 882-889.