

Slutrapport, Projnr: H0550051

”Fysiologiska och epidemiologiska studier av salmonella i svensk foderproduktion”.

Projektet har genomförts under tiden 2007-01-01 till 2007-06-30 vid Avd för foder, Statens Veterinärmedicinska Anstalt, Uppsala.

Projektansvarig: Per Häggblom, laboratoriearbetet har utförts av Sevinc Koyuncu.

Anslaget från Stiftelsen Lantbruksforskning har enligt särskilt beslut sam använts med ett anslag från Statens Jordbruksverk (SJV) med titeln ”Utvärdering av salmonellametoder att användas i kontrollen av foder” på 200.000 kr. Arbetet har främst inriktats på att utvärdera lämpliga metoder för att isolera salmonella från foder.

Bakgrund

Salmonellakontrollen av foder är en viktig del av det svenska kontrollprogrammet för salmonella och som också framgår av SJVs nyligen framlagda utredning ”Översyn av salmonellakontrollprogrammet-färdplan”, SJV rapport 2007:10.

Ett salmonellafritt foder har en relativt sett större betydelse i länder där prevalensen salmonella är lägre inom animalieproduktionen jämfört med länder med en hög prevalens. Önskemål om snabba och säkra isoleringsmetoder efterfrågas av foderindustrin inte bara i Sverige, något som bl a lett till att PCR-baserade metoder börjar användas i den frivilliga kontrollen.

Generellt är kunskaperna väsentligt sämre om hur väl metoderna, som primärt är utvecklade för livsmedel och djur, fungerar för foder och foderråvaror vilket i sin tur medför en viss osäkerhet t ex vid misstänkt foderorsakade utbrott. Endast några metoder finns validerade för ett fåtal fodertyper. Kontakter med EUs referenslaboratorium för salmonella i Bilthoven har upprätthållits under projektets gång.

Syftet med projektet

Syftet med det genomförda projektet var att jämföra den i Sverige och övriga Norden använda NMKL 71 metoden (Nordisk Metodikkommitté för Livsmedel) med andra väl etablerade odlingsmetoder metoder som Modified Semisolid Rappaport Vassiliadis metoden (MSRV) och den internationella standardmetoden EN/ ISO 6579 för att jämföra metodernas noggrannhet, känslighet och specificitet för olika fodervaror.

Material och Metoder

Sex olika foderråvaror inkl. färdigfoder har använts i studien och tre serotyper som isolerats från foder och sparats i SVAs stamförråd, Salmonella Typhimurium, S. Cubana och S. Yoruba.

Salmonellabakterier av respektive serotyp tillsattes fodervarorna i fem olika halter där de lägsta halterna förväntades ligga under detektionsnivån.

För samtliga metoder har buffrat peptonvatten (BPW) använts vid förinkuberingen av proverna.

Fodermaterialen som användes var helt vete, sojamjöl, rapsmjöl, palmkärnmjöl, pellets till smågrisar och skrapprov från elevator i foderfabrik. Alla proverna testades inledningsvis för att säkerställa att salmonella inte kunde isoleras från materialet.

För att i viss mån efterlikna de stressade bakterier som förekommer i fodermedel utsattes de uppodlade bakterierna för 4-8 °C under två dygn innan de blandades ner i foderproverna.

Till 25 g foder tillsattes 0.7, 7, 70 700 eller 7000 CFU av respektive serotyp och efter fyra timmar i rumstemperatur tillsattes BPW .

Från BPW togs en liten volym till MSR/V plattor resp. till RVS och MKTTn medium. Från MSR/V plattor, där en typisk tillväxtzon kunde iakttas, ströks en loop på XLD (Xylose Lysine Deoxycholat agar) respektive BGA(Brillant Green Agar). För att säkerställa att inte korskontamination förekom utfördes serologisk bestämning med monovalenta anti-O sera av de isolerade kolonierna.

Resultat

Samtliga metoder uppvisade en likartad noggrannhet och känslighet. Detektionsnivån varierade däremot för olika fodertyper och vid det lägsta antalet tillsatta salmonellabakterier (0.7 CFU/ 25 g) kunde salmonella inte återisoleras i något prov. Ingen av metoderna kunde påvisa S. Typhimurium eller S. Yoruba vid lägre halter än 700 CFU/ 25g och S. Cubana vid nivåer lägre än 70 CFU/ 25g i palmkärnmjöl.. Generellt var det svårast att påvisa låga halter salmonella i palmkärnmjöl medan i rapsmjöl låg detektionsnivån på en låg nivå. Jämfört med RVS uppvisade MKTTn buljongen flera falska negativa resultat eftersom XLD och BGA plattorna innehöll ett stort antal kolonier som inte utgjordes av salmonella. Materialet har behandlats statistiskt och ett manus för publicering är klart för att skickas till tidskrift.

Diskussion

Projektet har utförts genom att artificiellt ympa fodervaror med olika serotyper vilket sannolikt innebär vissa skillnader i metodernas uppträdande jämfört med naturligt infekterat material. Intressanta data som bl a framkommit är att:

1. NMKL metoden uppvisar en känslighet i paritet med de andra testade odlingsmetoderna
2. Låga halter salmonella är generellt svårare att påvisa i palmkärnmjöl jämfört med andra råvaror
3. Ingen påtaglig skillnad har påvisats avseende detektionsnivån för de olika serotyperna

Resultaten visar att det finns risker för att salmonella inte påvisas i vissa kontaminerade råvaror som palmkärnmjöl eftersom detektionsnivån i dessa ligger högre än för andra råvaror. Motsatta förhållandet gäller för rapsmjöl där det var förhållandevis enkelt att påvisa salmonella även vid låga nivåer

En förlängd inkubering av MSR/V plattorna medförde inte att ytterligare salmonella kunde påvisas. Några belägg för att det skulle vara påtagligt svårare att påvisa salmonella i färdigfoder (pelletterat smågrisfoder) jämfört med t ex skrapprover har inte studien kunna visa. Den fullständiga ISO-metoden har inte resulterat i en ökad känslighet jämfört med NMKL-metoden vilket visar att NMKL-metoden ger en känslighet som är jämförbar med andra mera arbetskrävande metoder. Jämfört med den nyligen utförda träckprovstudien har alltså inte MSR/V- preanrikningen resulterat i en högre känslighet för de testade fodertyperna. Med stöd av SJV pågår fn motsvarande studier med kommersiella PCR-metoder.

Publikationer

Ett manuskript med titeln ” A comparative study of culture methods for the detection of Salmonella in feed and feed ingredients” har sammanställts och kommer att skickas in för publicering under 2007.

Resultatförmedling

Undersökningens resultat har hittills redovisas i en skriftlig rapport till Jordbruksverket. Resultaten kommer att förmedlas till foder- och livsmedelsindustrin i samband med regelbundet återkommande möten och utbildningar.