

Guide til brug af diagnostisk test i bekæmpelsen af Salmonella Dublin i kvægbesætninger

Liza Rosenbaum Nielsen, Københavns Universitet (liza@sund.ku.dk), Lars Pedersen, SEGES (larp@seges.dk)
og Malene Budde, SEGES (mabu@seges.dk)

Guiden indeholder information om Salmonella Dublin med fokus på viden, der er nyttig i bekæmpelsen af smitten i kvægbesætninger. Find mere information, værktøjer og case beskrivelser til inspiration på www.salmonella.dk

Kort om Salmonella Dublin

Kun få salmonellatyper giver problemer hos kvæg i Danmark. Salmonella Dublin udgør omkring 90 % af de salmonellafund, der gøres i danske kvægbesætninger. Vi har mere af denne type i vores kvæg, end andre lande der har undersøgt for det.

Salmonella Dublin kan forårsage betydelige økonomiske tab og nedsat dyrevelfærd i smittede besætninger - ikke mindst i forbindelse med nysmitte, udbrud eller opblussen af sygdom i forskellige staldafsnit.

Salmonella Dublin har udviklet sig til at passe til kvæg. Man siger, at den er 'værtstilpasset'. Det betyder, at den især findes hos kvæg, opformeres i kvæg og spredes af kvæg. Mennesker kan dog blive meget alvorligt syge af bakterien, og der er stor risiko for at dø, hvis man rammes af sygdommen. Heldigvis er der ikke mange humane tilfælde i Danmark - mellem 10 og 50 hvert år. De kommer stort set alle fra oksekød, produceret i Danmark.

Kombinationen af den høje forekomst i dansk kvæg, risikoen for at gøre mennesker syge, samt effekten på dyrevelfærd og økonomiske tab gør, at vi i Danmark har besluttet at bekæmpe infektionen systematisk og har et aktivt nationalt overvågnings- og bekæmpelsesprogram.

Sådan spredes Salmonella Dublin i kvægbesætninger

Salmonella udskilles i gødningen. Den overlever nemt i miljøet omkring dyrene – især i fugtigt, lunt og ikke-rengjort miljø. Den kan derfor spredes via gødning og gylle og alt, hvad der kommer i kontakt med gødning og gylle.

Den spredes således ikke kun ved direkte kontakt mellem dyr, men også via gødningsforurenede overflader, inventar, redskaber, vand, mælk, fodertrug/bord, hænder, støvler, overtøj, transportvogne osv. Den kan også spredes over længere afstande (flere meter) gennem luften via aerosoler, for eksempel ved højtryksrens.

Derfor skal der hensigtsmæssige hygiejnetiltag og målrettede managementproducenter til for at stoppe smittespredningen mellem dyr, staldafsnit og besætninger. Inspiration og viden kan findes på www.salmonella.dk.

Sådan kan diagnostiske tests hjælpe i bekæmpelsen

Man vil sjældent have succes med udelukkende at teste og udsætte dyr for at slippe af med smitten, som man gør ved andre sygdomme. Men brug af tests kan være en hjælp i bekæmpelsesstrategien. Både til at undersøge, om man har fået stoppet smitten og til at udpege dyr, man kan få mistanke om, er smittebærere/smittefarlige.

Immunforsvarets reaktion på infektionen kan måles som antistoffer i blod- eller mælkeprøver hos en stor andel af de dyr, der smittes. Det er dog ikke alle dyr, der reagerer med antistoffer, og der er forskel på antistofreaktionen fra dyr til dyr. Det er biologi, der ikke lige er til at lave om på. Ikke desto mindre er antistofmålinger (ved hjælp af ELISA test) den mest følsomme test for, om dyr er eller har været smittet for nyligt. Det er derfor den type test, der hyppigst anbefales som hjælpeværktøj i bekæmpelse af salmonella.

På grund af variationen i antistofreaktionen fra dyr til dyr, giver det oftest mening at teste grupper af dyr og fortolke testsvarene på gruppeniveau i forhold til den viden, man har om smitteniveauet og smittespredningen i besætningen. Dyrenes alder er også af stor betydning for, hvordan antistofmålinger bedst kan bruges, som vist nedenfor.

Man kan bruge en anden slags test, hvis man har behov for at kunne se nærmere på selve bakterien, for eksempel for at undersøge typen af salmonella eller for at få dokumentation for, at der er bakterier i et bestemt dyr, område eller prøvemateriale. Her vil man forsøge at dyrke eller lave PCR-test på gødning, gylle, svaberprøver eller vævsprøver fra besætningen eller bestemte dyr. Man skal dog være opmærksom på, at et negativt bakteriologisk dyrknings- eller PCR-svar ikke kan bruges til ret meget. Dyret eller prøven kan nemlig godt have bakterier i sig, uden at det lykkes at påvise dem med metoden.

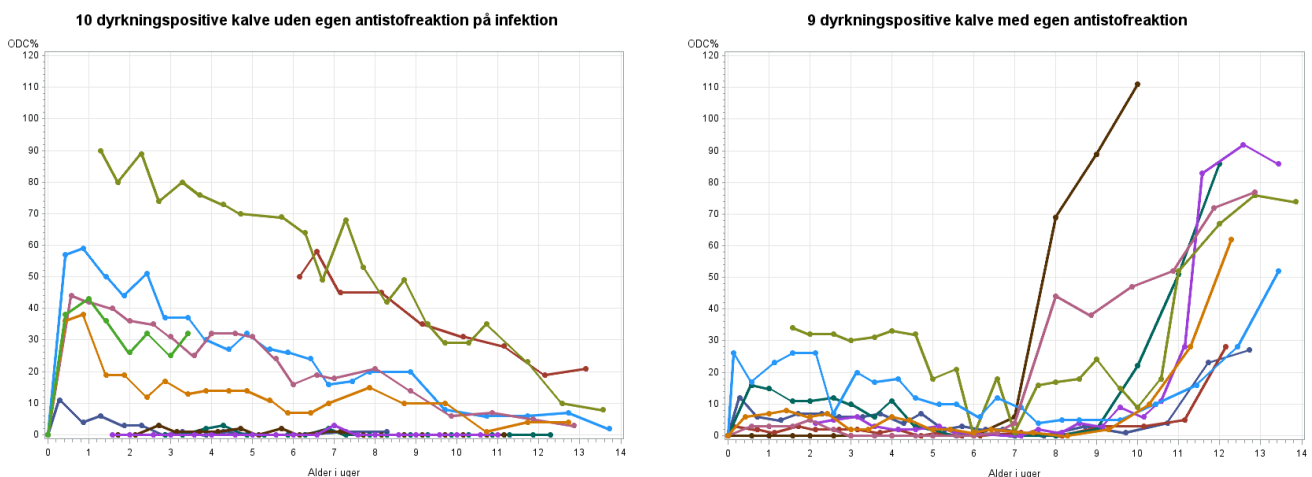
Syge samt yngre dyr udskiller typisk noget større mængder bakterier i gødningen, end de raske og ældre dyr. Derfor bruges bakteriepåvisning på enkelt dyr mest til test af syge dyr og evt. til helt unge kalve, som ikke bør testes med antistofmålinger (se hvorfor i næste afsnit).

Antistofreaktioner hos kalve under 3 måneder

De små kalve er mest følsomme for Salmonella Dublin. Det er derfor oftest dem, der bliver syge, og deres immunforsvar reagerer generelt ikke så godt og helt så hurtigt, som ældre dyrs. Derfor frarådes det kraftigt at bruge antistoftest/ELISA på kalve under 3 måneder til vurdering af, om kalvene har været udsat for smitte. I figur 1 vises antistofudviklingen i 19 kalve, der fik målt antistoffer på blodprøver, udtaget hver 3.-4. dag, fra kort efter fødsel og op til 14 de var uger gamle, i fem Salmonella Dublin-smittede kvægbesætninger. Kalvene har alle udskilt bakterier i gødningen en eller flere gange i mælkefodringsperioden.

Nogle af kalvene har højt antistofniveau rettet mod Salmonella Dublin, allerede når de er 1 uge gamle. Disse antistoffer er overført med råmælken (maternelle antistoffer). Mængden af maternelle antistoffer falder tydeligt over de første 6-10 uger af kalvenes liv. Andre kalve har lave niveauer af maternelle antistoffer, fordi de har fået råmælk fra køer med få salmonella-antistoffer.

Kalve, der producerer deres eget antistofrespons, gør det oftest, så det først er målbart efter uge 11-12. I figur 1 ses det, at kun en enkelt af de 19 kalve havde en antistofstigning til over 50 ODC% allerede ved uge 8. Dette var en kalv, der udskilte bakterier i gødningen mange gange, så den har formentlig været massivt smittet. Hos den kalv kom antistofreaktionen 1 måned efter, at den første positive gødningsprøve blev fundet ved 4 ugers alderen. Det er dog sjældent, det går så hurtigt hos så unge kalve. Faktisk ligger antistofreaktionerne generelt højest ved 15-16 ugers alderen, i besætninger hvor der er smittespredning blandt kalvene. Mønsteret med det ringe antistofsvaret hos kalve under 3 måneder stemmer fint overens med en tidligere undersøgelse fra USA (Da Roden et al., 1992).



Figur 1: Antistoffer mod Salmonella Dublin i 19 smittede kalve op til 14 uger gamle i 5 smittede besætninger.

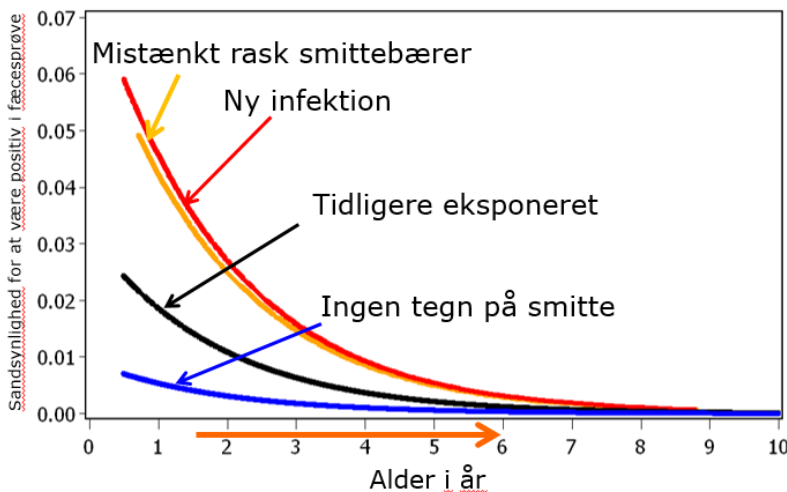
Der var 10 kalve uden egen produktion af antistoffer (graf til venstre). Seks af de 10 kalve havde høje niveauer af maternelle antistoffer, mens 4 kalve ikke havde målbare antistoffer i hele den periode, de blev fulgt. Ni af de 19 kalve producerede selv antistoffer mod infektionen, de fleste først ved 11-12 ugers alderen eller senere (graf til højre).

Antistoffer og udskillelse af bakterier i forhold til alderen på dyret

Jo ældre kvæg er, jo mindre udskiller de bakterier i gødningen. Dyr over 3 måneder gamle vil som regel reagere med et antistofsvaret i løbet af 2 uger efter, de bliver smittet første gang. Det kræver dog, at dyret optager en vis dosis bakterier. Ellers nøjes dyret måske med en lille antistofreaktion, der knap er målbart. Antistofmålinger på dyrene vil naturligt fluktuere op og ned, ikke mindst i besætninger hvor dyrene møder bakterierne forskellige steder og i forskellige koncentrationer.

Et stort dansk studie af 3.097 dyr viste, at der er væsentlig forskel på risikoen for, at dyret udskiller bakterier på en tilfældig dag, alt efter hvilken af følgende grupper, den tilhørte: Mistænkt persisterende (rask) smittebærer (mindst 3 høje antistofmålinger over 80 ODC%), tegn på nyinfektion (en nylig stigning fra under 25 til over 50 ODC%), eksponeret (middelhøje/fluktuierende antistoffer op til 80 ODC%) eller ingen tegn på at være smittet (mindst 2 lave antistofmålinger under 25 ODC% og ingen over) (Nielsen, 2013).

Figur 2 viser, at smitterisikoen gennemsnitligt set var højest fra de to første grupper (gul og rød graf), især hos opdrættet. Andelen af dyr, der udskilte Salmonella Dublin-bakterier i gødningen på en tilfældig dag, var 3 til 6 gange højere hos de unge dyr end hos de ældre køer med tilsvarende antistofprofiler. Derved udgør de en større smitterisiko i besætningen. Førstekalvskøerne ligger midt imellem med hensyn til smitterisiko. Det er nyttig viden i beslutningstagningen om isolation og udsætning af risikodyr. Det vil dog også afhænge af den enkelte besætnings smittepres i forskellige staldafsnit. For eksempel er dyr, der har været klinisk syge af salmonella eller er blevet smittet omkring kælvningstidspunktet, i større risiko for at være vedvarende smittebærere. Det skyldes formentlig, at den stress, de var under, mens de var smittede eller syge, forhindrede immunforsvaret i at slå infektionen effektivt ned. Dette viser også, at høje antistoffer ikke er et udtryk for, om dyrets immunforsvar bekæmper infektionen effektivt.



Grafen skal tegnes om af grafiker om muligt

Figur 2: Sandsynligheden for, at der påvises bakterier ved dyrkning af gødning fra dyret på en tilfældig dag i Salmonella Dublin-smittede besætninger i fire antistofgrupperinger af 3.097 dyr i 14 smittede danske kvægbesætninger (Nielsen, 2013).

Brug af test-strategier til bekæmpelse af Salmonella Dublin i kvægbesætninger

Diagnostik bruges generelt til 3 forskellige formål i kvægbesætninger:

- 1) **Overvågning:** Klassificering af besætninger og dokumentation,
- 2) **Smittepåvisning:** vurdering af, hvor i besætningen, der sker smittespredning
- 3) **Bekæmpelse:** test af, om tiltag virker i bestemte områder af besætningen og udpegning af smittebærere.

Nogle kvægbesætninger får udtaget prøver til diagnostik, uden det er gennemtænkt, hvad prøvesvarene skal bruges til, og hvad man vil gøre, når man får prøvesvarene. Laboratorieanalyser er ikke nyttige, hvis ikke de bruges til at tage beslutninger. Sørg for at beslutte på forhånd, hvad formålet med prøveudtagningen er, og vurder kritisk hvilke og hvor mange dyr, der skal indgå i testningen. Ellers kan testningen være penge ud af vinduet.

Eksempelvis de 8 blodprøver fra kalve, der har været anvendt til besætningsklassificering i den nationale overvågning. De blev valgt som et kompromis, der var brugbart på tværs af alle besætninger, til at følge udviklingen på nationalt niveau over tid. Det er derimod sjældent nok at inkludere 8 dyr i en stikprøve, hvis man forsøger at vurdere, hvor i besætningen der sker smittespredning, eller hvis man vil være sikker på at kunne vurdere, om der er tilstrækkelig effekt af smittebegrænsende tiltag i en stor kvægbesætning. Bedste stikprøvestørrelse afhænger af besætningsituationen og bør beregnes som en del af planlægningen af test-strategien. Eksempler vil blive brugt til illustration nedenfor.

To typer af tests

ELISA-tests til måling af antistofniveauet i blod eller mælkeprøver

- er oftest forholdsvis billige tests og nemme at udføre på mange prøver på én gang
- viser om dyret har været udsat for salmonellasmitte før den dag, dyret testes.

Der er forskel på, hvor hurtigt et dyr reagerer på den smitte, det udsættes for, og hvor kraftigt dyret reagerer. Derfor er antistofmålinger naturligt meget varierende i niveau.

En kalv er typisk noget længere om at reagere på smitten end en større kvie eller ko. Hvis en helt nyfødt kalv bliver smittet, kan antistofsvaret være forsinket helt op til 11-12 uger. Kalve under 3 måneder har typisk en ringe reaktion på smitten. Derfor siger et negativt svar fra en 1 eller 2 måneder gammel kalv ikke noget om, hvorvidt kalven har været

udsat for smitten, og det anbefales ikke at teste kalve under 3 måneder gamle. Man kan sjældent bruge svaret fra kalve under 3 måneder til noget.

Kalve over 3 måneder og voksne dyr er typisk op til 2 uger om at vise reaktion i blod- eller mælkeprøven, men ikke alle dyr reagerer lige meget, og nogle gør slet ikke. Det er baggrunden for, at man bruger test af flere dyr/grupper af dyr i stedet for at bruge antistofmålinger fra enkelte dyr til at forstå smitteudbredelsen.

Ca. 75 % af de dyr, der har været smittet, tester positive med ELISA-tests.

Dyr, der slet ikke har været udsat for smitten, vil oftest ligge på 0 (eller meget tæt på 0) i antistofværdi.

Desuden vil dyrene typisk fortsætte med at have antistoffer i blod og mælk flere måneder efter, at smitten er blevet renset ud fra kroppen af dyrets immunforsvar. Altså skal påvisning af antistoffer ikke opfattes som, at dyret nødvendigvis er smittefarligt her og nu. Dog skal det siges, at der er vist en sammenhæng imellem meget høje antistofniveauer og udskillelse af bakterier (smittefarlighed). Dette skyldes, at antistofferne falder over tid, når dyret (eller besætningen) renser sig for smitten.

Figur 3 illustrerer, hvordan udviklingen af antistoffer målt med ELISA kan forløbe i forhold til smittetidspunktet hos to forskellige kalve, der smittes 2 måneder gamle, for eksempel i forbindelse med flytning til en fællesboks.

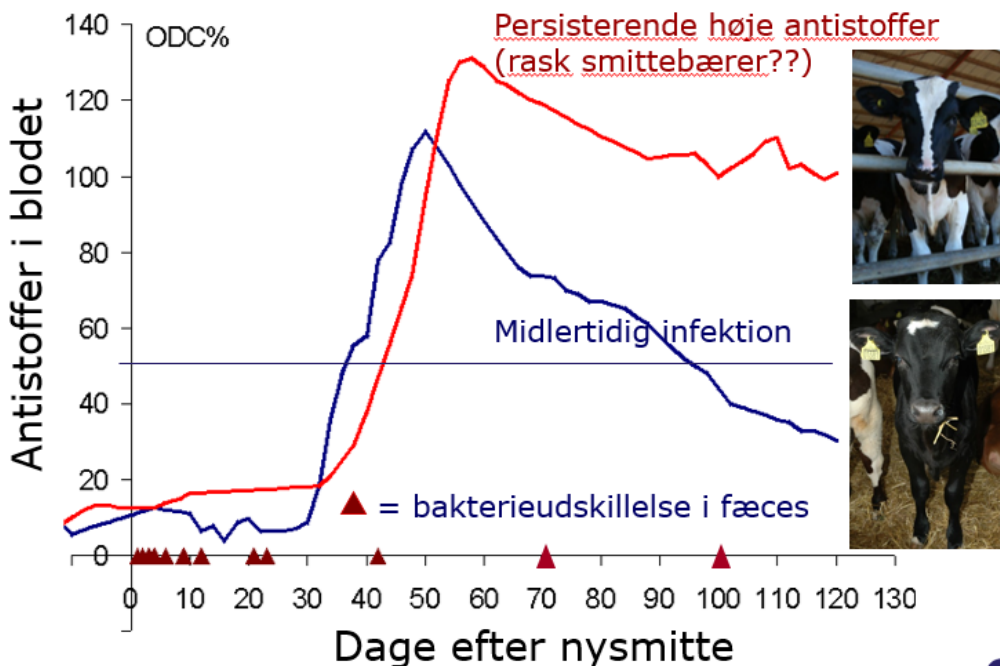
Den ene kalv (blå graf) gennemgår en kortvarig infektion, hvor den udskiller bakterier i gødningen over en 3 ugers periode. Dens immunforsvar reagerer på infektionen, og antistofstigningen kan måles 5-6 uger efter, at dyret blev smittet.

Antistofferne falder dog fhv. hurtigt igen, efter at kalven holder op med at udskille bakterier og renser sig for infektionen.

Den anden kalv (rød graf) stiger i antistoffer 1 uge senere og fortsætter med at have høje antistoffer i længere tid. Den er blevet langvarig smittebærer og udskiller bakterier i gødningen et par gange med en måneds melleum.

Figuren forklares i denne film ([link](#)).

Bakterieudskillelse og antistofsvær hos 2 kalve, der smittes 2 mdr. gamle



Grafen skal tegnes om af grafiker om muligt – evt. lav en figur for hver kalv, så man kan se, at der kun er den røde, der fortsat har bakterieudskillelse efter serokonverteringen (det er lidt sort-hvidt sat op, men vil være mest pædagogisk).

Figur 3: Illustration af forskellen i udskillelse af bakterier i gødningen og antistofreaktionen hos to fiktive kalve, der antages smittet ved dag 0, hvor de er 2 måneder gamle. Kalven med den blå graf renser sig for infektionen efter 3 uger. Kalven med den røde graf bliver vedvarende smittebærer og har et vedvarende højt antistofrespons. Den udskiller bakterier i gødningen en gang imellem og udgør derved en risiko for nabokalvene i samme boks og kan sprede bakterier i nærmiljøet.

Bakteriologisk test til påvisning af bakterier i gødning, miljøprøver eller organer fra aborter/aflivede/døde dyr

- er typisk noget dyrere end ELISA-tests og mere arbejdskrævende at udføre på mange prøver på én gang
- kan vise om dyret udskilte salmonellabakterier den dag, det fik udtaget prøven (om dyret var smittefarligt)
- kan være med til at vurdere, om salmonella var årsagen til abort, sygdom eller død hos et dyr
- eller om der er bakterier i dyrenes nærmiljø, gylle, foder eller vand.

Salmonellabakterier udskilles ikke hele tiden i gødningen, men derimod periodisk. Så man kan ikke være sikker på, at prøven bliver positiv, selvom dyret faktisk er smittet og måske udskiller igen dagen eller ugen efter. Blandt de 19 kalve i figur 1, var 6 kun positive 1 gang, 9 var positive 2 gange, 2 var 3 gange, 1 var 4 gange, og 1 var positiv 5 gange, selvom de blev testet mellem 8 og 26 gange hver. For flere kalve var der dyrkningsnegative dage imellem de dyrkningspositive.

Fordelen ved bakteriologisk dyrkning er, at hvis prøven bliver positiv, kan man få svar på, hvilken type salmonella, der er fundet, og evt. om den er resistent overfor bestemte slags antibiotika.

Der findes to forskellige måder at påvise bakterier:

- dyrkning på vækstmedier: her får man levende bakterier til at vokse frem
- PCR: her påvises arvemateriale (DNA) fra bakterierne, som godt kan være døde (ude af stand til at smitte)

Sandsynligheden for at disse tests giver positive svar kommer meget an på, hvor mange bakterier dyret udskiller, eller hvor stor koncentrationen af bakterier er i prøven. Hvis der er mange bakterier til stede, bliver prøven nemt positiv, og PCR-værdien vil typisk ligge lavt. Hvis der er få bakterier til stede i prøven, kan prøven godt ende med at blive negativ. Derfor er en negativ prøve ikke nok til at 'frikende' et dyr eller en besætning. Man kan øge chancen for at finde de bakterier, der er til stede i besætningen, ved at teste mange dyr og teste flere gange, men det kan blive dyrt. Derfor bruges ELISA ofte som valg af test i et bekæmpelsesforløb, og det vil være brugen af ELISA (antistofmålinger), der vil være mest fokus på nedenfor.

PCR-svar i den høje ende af skalaen kan være udfordrende at fortolke, og forskellige PCR-tests kan give forskellige skalaer, man skal kunne forholde sig til. For eksempel kan PCR-tests, der går op til 40 (negativt svar) være klart positive, når værdien ligger på 32 eller derunder. Derimod er værdier fra 33 til 39 tvivlsomme og potentielt falsk positive. Forurening af prøven med DNA-materiale fra salmonella kan ske og kan medføre falsk positive reaktioner.

PCR-testens evne til at påvise bakterier kan for eksempel også afhænge af, om der først gennemføres en opformering af bakterierne i laboratoriet. Alt i alt kræver brug af PCR-test indtil videre god forståelse af, hvilken test, der anvendes, testens validitet, bedste anvendelsesmåde og fortolkning af svaret.

Grundlæggende forudsætninger før man går i gang med at teste

Besætninger med megen smittespredning vil have en blanding af dyr med høje og lave antistofmålinger. Dyrene vil befinde sig på forskellige stadier af antistofudviklingen, og man rammer ned et mere eller mindre tilfældigt sted i deres forløb, når man udtager en stikprøve. Nogle dyr vil være nysmittede og ikke havde udviklet antistoffer endnu. Andre gennemgår en infektion og begynder at reagere, men ligger måske ikke højt endnu. Og nogle dyr vil have overstået infektionen og har rensat sig, men har stadig højt niveau af antistoffer i en periode på 3-9 måneder. Der er stor variation fra dyr til dyr. Endelig kan der være nogle få dyr, der er blevet vedvarende smittebærere (ofte kaldet 'raske smittebærere' fordi de ikke udviser kliniske tegn på sygdom, selvom de er smittede). Sidstnævnte dyr vil oftest fortsætte med at have høje antistofmålinger (over ca. 80 ODC%) over længere tid.

Langt de fleste besætninger med testpositive kalve (3-6 måneder gamle) har aktiv smittespredning. Ikke bare hos kalvene, men også længere oppe i systemet. Det kan som regel ikke betale sig at teste ældre dyr i besætningen, før kalvene kan holdes fri for smitte. Ellers bliver der ved med at komme ny smitte nede fra de unge dyregrupper.

Det betyder også, at man bliver nødt til at starte med at få optimeret hygiejnen og nedbringe kontakten mellem smittefarlige og modtagelige dyr. Belægningsgraden skal ofte reduceres, eller der skal arbejdes på at skabe luft i systemet. Dette kan kræve, at der tages nye arealer i brug eller indkøbes nye bokse, eller benyttes en tom stald på en anden ejendom i en periode. Plads, luft og tørt underlag (velstrøede bokse) gør det sværere for salmonella at overleve og spredes. Kalvene skal beskyttes effektivt mod smitte. Både under og efter kælvningen samt i de vogne/bokse/hytter, kalvene kommer ind i som spæde. Det er en vigtig forudsætning for succes, at hullerne i smittevejene lukkes eller i hvert fald mindskes. Ellers vil man blive ved med at få testpositive kalve, og så kommer man ikke videre.

Hvis besætningen ikke allerede får udtaget tankmælk til test hver måned, anbefales det at igangsætte dette, så udviklingen bedre kan følges.

Trin 1 – test af kalve

For at være sikker på, at smitten til kalvene er stoppet, bør man teste en stor andel af kalvene 3-6 måneder gamle, fordelt på forskellige staldafsnit/fællesbokse. Den bedste stikprøvestørrelse kan beregnes for den konkrete besætning – eller man kan bruge tabel 1 på sidste side i dette dokument som rettesnor. Ved at gøre det, kan man være 95 % sikker på, at færre end 10 % af kalvene har været udsat for smitte, hvis alle prøverne er negative. Tester man alle kalvene, kan sikkerheden blive endnu bedre. Bemærk, at man skal teste rigtigt mange dyr, hvis man vil være ret sikker på at fange bare en enkelt kalv, der har været udsat for smitte, så oftest må man leve med lidt usikkerhed i testproceduren.

Proceduren gentages hver 3. måned, indtil man har mindst to, gerne tre, testrunder i træk, hvor alle kalve ligger under 15 ODC%. Tester man mere end 10 kalve, kan der risikere at være en enkelt positiv prøve, uden at det er tegn på smittespredning, da testen en gang imellem giver en falsk-positiv reaktion.

Trin 2 – test af opdræt

Man kan nu bevæge sig op i systemet og tilføje testning af ældre kalve og kvier. Trin 1 fortsættes sideløbende. Det kan anbefales at få overblik over smitteudbredelsen i opdrættet ved at teste mindst 30 dyr over 6 måneder gamle, fordelt på forskellige staldafsnit. Er der mange antistofpositive (tegn på smittespredning), bør man gå tilbage til at teste afsnit for afsnit, ligesom man gjorde med kalvene, og forbedre hygiejnen og kontaktmønstre indtil disse hold også bliver testnegative, når de testes hver 3. måned.

Trin 3 – test af kælvekvier og nykælvede kvier

Trin 3 kan evt. startes samtidig med Trin 1 eller Trin 2, hvis man allerede ved, der ikke er meget smitte blandt ungdyrene: Test alle de kvier, der skal kælve de næste 3 måneder. Kvier, der ligger over 50 ODC% bør betragtes som smittefarlige og bør ikke komme i kontakt med andre dyrs kælvningsmiljø. De kan med fordel kælve i egen enkeltboks, hvor kalven kan fjernes hurtigt og kvien ikke kommer i kontakt med andre kvier eller køer. Boksen rengøres efter kælvningen, så smitte ikke overføres til de næste dyr i boksen.

Test evt. de antistofnegative kvier 14-21 dage efter kælvningen for at se, om de er steget i niveau. Det vil være tegn på, at der sker smitte i forbindelse med kælvningen, og man må tilbage og se, hvad der kan gøres ved dette.

Når der er godt styr på at forebygge smitte hos opdrættet og kælvekvierne, fortsættes til Trin 4.

Trin 4 – test af køer og udpegning af mistænkte smittebærere

Test samtlige køer med ydelseskontrolmælk. Tjek figuren og listerne i salmonellaudskriften fra DMS grundigt. Er der et mønster? Er det især nykælvede, der ligger højt? Bestemte pariteter? Er kvierne, der blev testet før kælvning, steget? Dette kan give et hint om, hvorvidt der sker smitte i kælvningsboks eller nykælverområde.

Hvis der ikke er for mange køer, som ligger over 80 ODC%, kan man begynde at følge dem med gentagne målinger hver 3. måned. Alt efter temperament, økonomi osv. kan man teste alle køer hver 3. måned for også at fange evt. nye højtiterkøer. Eller man kan lave en årlig måling til det formål.

Når der ikke længere er køer, der ligger over 80 ODC%, rykkes grænsen nedad, og der holdes nu øje med dem, der ligger over 50 ODC%.

Når tankmælken begynder at falde, er det tid til at gå mere aktivt til værks med udpegning af dyr, der konstant ligger højt, samtidig med, at der holdes skarpt øje med, at der ikke igen spredes smitte hos kalve og kvier, der skal kælve og lige har kælvnet. Hygiejnen skal fastholdes på et højt niveau nu, og test af kalve, tankmælk og udpegning af smittebærere bør fortsættes, indtil besætningen har været i Niveau 1 i 1 år. Tankmælken bør fortsættes på månedlige målinger, i 3 år efter Niveau 1 er opnået og tjekkes for udsving, der kan være tegn på, at noget rører på sig igen. Det frarådes at stoppe bekæmpelsesindsatsen, før tankmælken ligger stabilt under 10 ODC%.

De gode hygiejne- og forebyggende tiltag bør fortsættes. Det vil være dumt at slække på smittebeskyttelsen, når man har set, at det modvirker smitte. Husk, at indsatsen ikke kun virker forebyggende på salmonella, men også mange andre infektioner. Besætningen vil løbende være i risiko for at optage ny smitte fra miljøet og andre besætninger, og de effektive tiltag, man har fået indført, modvirker at smitten vil få fat og sprede sig, selv hvis uheldet skulle være ude, og salmonellabakterier kommer ind i besætningen igen.

Det skal bemærkes, at der kan være flere forskellige versioner eller kombinationer af ovenstående test-strategi, der er relevant. Det vil afhænge af den enkelte besætnings struktur, størrelse og smittepres i forskellige staldafsnit samt hvilke muligheder, der findes for at sektionere og sætte mistænkte smittebærere ud.

Tabel I Anbefalede stikprøvestørrelser afhængig af målet med testningen.

Kriterie: Under 10% smittede dyr, hvis prøverunden er negativ	
Antal dyr i staldafsnittet der skal testes	Anbefalet mindste stikprøvestørrelse (max. antal positive)
1-10	Alle dyrene testes (ingen positive)
11-14	Alle dyrene testes (max. 1 positiv)
15	14 (max. 1 positiv)
16	15 (max. 1 positiv)
17-18	16 (max. 1 positiv)
19	17 (max. 1 positiv)
20-21	18 (max. 1 positiv)
22-23	19 (max. 1 positiv)
24-25	20 (max. 1 positiv)
26-28	21 (max. 1 positiv)
29-31	22 (max. 1 positiv)
32-34	23 (max. 1 positiv)
35-37	24 (max. 1 positiv)
38-41	25 (max. 1 positiv)
42-46	26 (max. 1 positiv)
47-51	27 (max. 1 positiv)
52-57	28 (max. 1 positiv)
58-65	29 (max. 1 positiv)
66-74	30 (max. 2 positive)
75-86	31 (max. 2 positive)
87-102	32 (max. 2 positive)
103-123	33 (max. 2 positive)
124-154	34 (max. 2 positive)
155-203	35 (max. 2 positive)
204-292	36 (max. 2 positive)
293-504	37 (max. 2 positive)
505-	38 (max. 2 positive)

Kriterie: Der er ingen smittede dyr, hvis prøverunden er negativ	
Antal dyr i staldafsnittet der skal testes	Anbefalet mindste stikprøvestørrelse
1-60*	Alle dyrene
61-115	Alle dyr minus 1
116-169	Alle dyr minus 2
170-223	Alle dyr minus 3
224-278	Alle dyr minus 4
279-332	Alle dyr minus 5
333-386	Alle dyr minus 6
387-441	Alle dyr minus 7
442-495	Alle dyr minus 8
495-549	Alle dyr minus 9
550-	Alle dyr minus 10
*God sikkerhed kan ikke opnås i små grupper under 10 dyr. I stedet må man teste flere gange over tid, fx månedligt.	

Referencer

Da Roden, L., Smith, B.P., Spier, S.J., Dilling, G.W., 1992. Effect of calf age and *Salmonella* bacterin type on ability to produce immunoglobulins directed against *Salmonella* whole cells or lipopolysaccharide. Am. J. Vet. Res. 53, 1895-1899.

Nielsen, L.R., 2013. *Salmonella* Dublin faecal excretion probabilities in cattle with different temporal antibody profiles in 14 endemically infected dairy herds. Epidemiology and Infection 141, 1937-1944.