



ANBEFALINGER OMKRING DIAGNOSTIK AF DIARRESYGDOMME HOS SMÅGRISE OG SLAGTESVIN, VERSION 2

RAPPORT NR. 42

Rapporten samler information vedrørende diagnostik af diarresygdomme ved smågrise og slagtesvin samt angiver anbefalinger til hjælp for praktiserende dyrlæger.

INSTITUTION: VIDENCENTER FOR SVINEPRODUKTION

FORFATTER: **KEN STEEN PEDERSEN**

UDGIVET: 03. JUNI 2014 (Erstatter tidligere udgave af 8. oktober 2013)

Dyregruppe: Smågrise og Slagtesvin

Fagområde: Sundhed

Sammendrag

I denne rapport er information vedrørende diagnostik af diarresygdomme ved smågrise og slagtesvin samlet i en række anbefalinger. Anbefalingerne er bl.a. baseret på undersøgelser ved Københavns Universitet, Veterinærinstituttet ved Danmarks Tekniske Universitet og Videncenter for Svineproduktion og skal betragtes som de bedste anbefalinger baseret på den nuværende viden. Det må forventes, at anbefalingerne skal justeres løbende som følge af nye forskningsresultater samt erfaringer fra praksis. Version 2 af rapporten er opdateret på anbefalinger omkring brug og fortolkning af sokkeprøver.

Anbefalingerne dækker de mest almindelige situationer fra praksis og vedrører helt overvejende forhold omkring Lawsonia-lignende diarre ved smågrise og slagtesvin, herunder metode til vurdering af den produktionsmæssige betydning af infektion med *Lawsonia intracellularis*. Der gives også anbefalinger vedrørende diagnostik af klassisk *E. coli* fravænningsdiarre.

Påvisning af diarre hos både enkelte og flokke af grise har betydning for igangsætning af antibiotikabehandling. Alle grise med gødningstilsmudsning af bagparten og rødme af endetarmsområdet bør behandles mod diarre. Herudover bør alle grise, der observeres med grødet/vandig gødningskonsistens behandles mod diarre. Behandling af diarre på flokniveau bør derfor indledes, når der i gennemsnit er 1-3 klatter pr. sti i en sektion (gælder ved 18-50 grise pr. sti).

For at opnå det bedste resultat bør diagnostik i relation til tarmbetændelse generelt samtidigt undersøge for både *L. intracellularis*, *E. coli* og *B. pilosicoli*.

Der skelnes mellem diagnostik på individuelle grise og på grupper af grise. Påvisning af tarmbetændelse hos individuelle grise med eller uden diarre kan f.eks. være relevant når et sygdomsproblem har et omfang, der kun kræver antibiotikabehandling på enkeltdyrsniveau. Disse undersøgelser kan i de fleste tilfælde foretages ved kvantitativ PCR på 3-5 gødningsprøver fra karakteristisk syge grise.

Påvisning af tarmbetændelse hos en gruppe af grise med diarre kan f.eks. være relevant i forbindelse med undersøgelse af diarre, der kræver flokmedicinering på sektionsniveau. Undersøgelserne foretages bedst ved sokkeprøver, der testes ved kvantitativ PCR.

Den produktionsmæssige betydning af *L. intracellularis* i en gruppe af grise kan vurderes ved en sokkeprøve, der testes ved kvantitativ PCR. Sokkeprøven udtages på det tidspunkt, hvor den gennemsnitlige udskillelse af *L. intracellularis* bakterier vurderes at være størst. Alternativt laves en besætningsprofil, hvor der udtages sokkeprøver i forskellige aldersgrupper.

Baggrund

Diarresygdomme er den største årsag til antibiotikabehandling i den danske svineproduktion. Målt i Animal Daily Doses (ADD) udgør forbruget til diarresygdomme 70 % af det samlede antibiotikaforbrug hos danske grise efter fravæning (DANMAP, 2010).

Klassisk fravænningsdiarre associeret med *Escherichia coli* indenfor de første 7-10 dage efter fravæning var tidligere en hyppig diagnose. Dette er ikke længere tilfældet og de store mængder af antibiotika anvendes således ikke til fravænningsdiarre, men derimod til smågrisediarre, som forekommer i tredje til ottende uge efter fravæning. Denne type diarre omtales hyppigt som Lawsonia-lignende diarre, da bakterien *Lawsonia intracellularis*, generelt har været betragtet som den vigtigste infektion. I dag ved man at *E. coli*, *Brachyspira pilosicoli* og *L. intracellularis* alle er vigtige årsager, samt, at de i omkring halvdelen af besætningerne forekommer i kombination.

Overordnet falder årsagerne til diarreudbrud i 3 kategorier: 1. Udbrud hvor ingen grise har en bakteriel tarmbetændelse. 2. Udbrud hvor en mindre andel af grisene har en bakteriel tarmbetændelse og 3. Udbrud hvor en stor del af grisene har en bakteriel tarmbetændelse. Kategorierne 1 og 2 er ved etablering af en arbejdsdefinition for det videre arbejde betegnet som ikke-infektiose diarre-udbrud. Der er dog tale om en flydende overgang mellem infektiose og ikke-infektiose diarre-udbrud, da man i de fleste tilfælde vil have en blanding af grise med og uden bakteriel tarmbetændelse.

I svineproduktionen foretages diagnostik kun sjældent med det formål at behandle eller forebygge sygdom hos de grise som udsættes for den diagnostiske undersøgelse. Grundlaget for besætningsdiagnostik er en forventning om, at de undersøgte grise er repræsentative for de sygdomstilfælde, der måtte komme i fremtiden.

Klinisk og mikrobiologisk diagnostik har betydning for antibiotikabehandling samt forebyggende tiltag i relation til diarresygdomme. Anbefalinger for diagnostik vedrørende diarresygdomme hos smågrise og slagtesvin er samlet i denne rapport.

Materiale og metode

Overordnet er der en række diagnostiske metoder til rådighed ved diagnostik af diarresygdomme. Der gives retningslinier for valg af diagnostik baseret på undersøgelser ved Københavns Universitet, Veterinærinstituttet ved Danmarks Tekniske Universitet og Videncenter for Svineproduktion. Der udover er der inddraget viden fra udlandet i det omfang det er skønnet relevant. En stor del af den pågældende viden, er indhentet fra undersøgelser af *Lawsonia*-lignende diarre i den danske smågriseproduktion, men det antages at det umiddelbart kan overføres til forholdene i slagtesvineproduktionen.

Der er lavet diagnostiske anbefalinger til følgende almindelige situationer fra praksis:

1. Påvisning af diarre på individniveau
2. Påvisning af diarre på flokniveau
3. Vurdering af forekomst af og årsag til tarmbetændelse hos enkeltgrise
4. Vurdering af forekomst af og årsag til tarmbetændelse i forbindelse med diarre på flokniveau
5. Diagnostik i forbindelse med fravænningsdiarre
6. Vurdering af den produktionsøkonomiske betydning af en *Lawsonia intracellularis* infektion

Anbefalingerne er ikke fuldstændige og omfanget af prøver/undersøgelser er tilpasset de mest almindelige situationer. Der vil således kunne forekomme situationer hvor yderligere undersøgelser for andre mikroorganismer er relevante. Forhold vedrørende svinedysenteri og *Salmonella* er ikke berørt. Ved mistanke om disse infektioner bør undersøgelserne gennemføres i samråd med Laboratoriet for Svinesygdomme og evt. SPF-sundhedsstyringen, såfremt der er tale om en SPF-besætning.

Til udvikling af anbefalingerne er brugt følgende egenskaber til vurdering af de diagnostiske tests:

Diagnostisk sensitivitet: Procent af sandt syge dyr som en test påviser som syge.

Diagnostisk specificitet: Procent af sandt raske dyr som en test påviser som raske.

Positiv prædiktiv værdi: Procent af test-positive dyr som faktisk er sandt syge.

Negativ prædiktiv værdi: Procent af test-negative dyr som faktisk er sandt raske.

I forbindelse med udarbejdelse af anbefalingerne er følgende sygdomsdefinitioner for tarmbetændelse forårsaget af henholdsvis *E. coli*, *L. intracellularis* og *B. pilosicoli* anvendt:

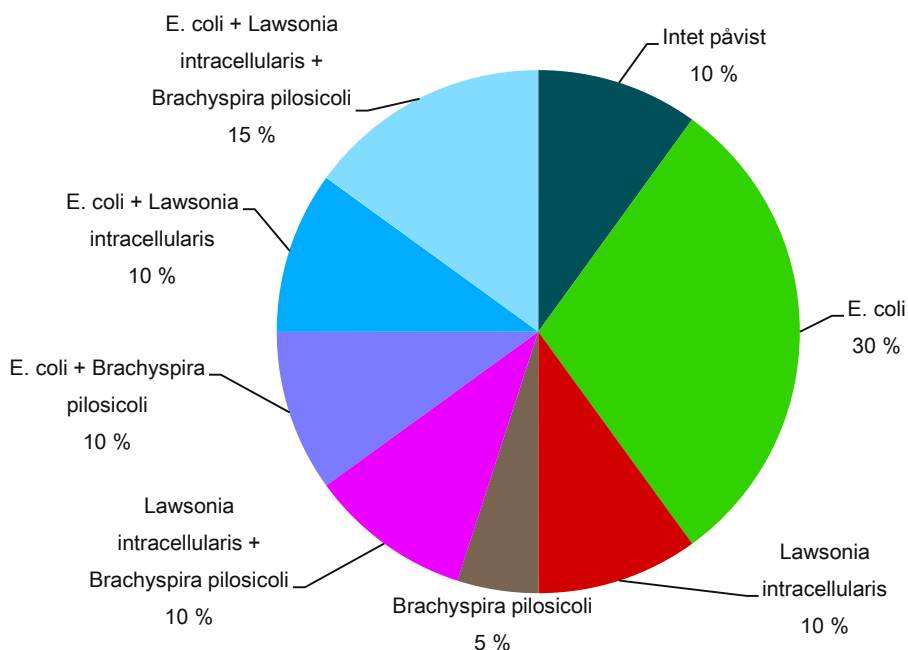
E. coli: Påvisning af hæmolytiske *E. coli* i renkultur eller som en dominerende del af en blandingsflora (50-90 % af bakterievæksten) ved dyrkning fra tyndtarm (jejunum) eller en gødningsprøve.

L. intracellularis: Påvisning af *L. intracellularis* (Immunhistokemi) i tynd-/tyktarmvæv kombineret med proliferative histologiske forandringer i tynd- eller tyktarm.

B. pilosicoli: Påvisning af *B. pilosicoli* i tyktarm (FISH eller dyrkning) eller ved dyrkning fra en gødningsprøve. Samtidig påvisning af histopatologiske forandringer forenelige med en *B. pilosicoli* infektion.

Forekomsten af de forskellige bakterier på sektionniveau er baseret på de tal, der fremgår af figur 1. Disse oplysninger stammer fra en undersøgelse af grise fra 20 diarreudbrud (et udbrud i 20 forskellige besætninger). I alt 20 staldsektioner er undersøgt på en dag, hvor flokmedicinering i vandet blev startet som følge af diarreudbrud ved smågrise. Fravænningsdiarre i de første 10 dage efter fravæning er ikke undersøgt i denne undersøgelse og udvælgelse af besætninger samt grise er tidligere beskrevet [1]. De ovenstående sygdomsdefinitioner er brugt til at inddele hvilke bakterier, der var årsag til tarmbetændelse i de enkelte diarreudbrud, hvilket er baggrunden for de tal, der er angivet i figur 1. Samlet set var *E. coli*, *L. intracellularis* og *B. pilosicoli* involveret som årsag til bakteriel tarmbetændelse i henholdsvis 73 %, 47 % og 47 % af de undersøgte diarreudbrud.

Ved alle undersøgelser er anbefalingerne baseret på, at den diagnostiske sensitivitet og specificitet samlet set skal maksimeres. Dvs. ved valg af f.eks. qPCR tærskelværdier er valgt det antal bakterier, hvor summen af den diagnostiske sensitivitet og specificitet er maksimal.

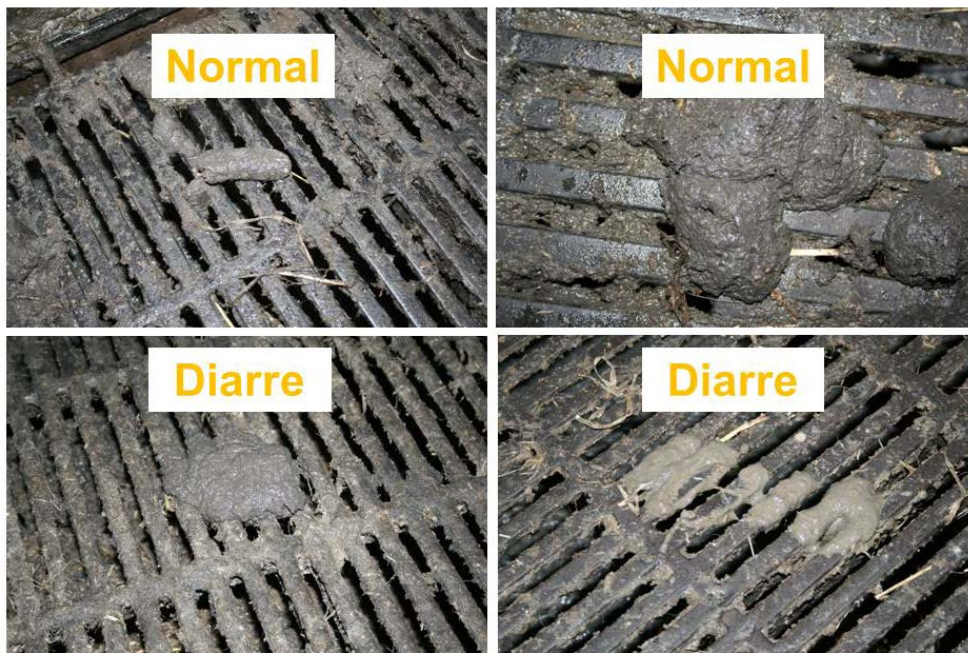


Figur 1 Bakteriel årsag til tarmbetændelse i sektioner med udbrud af diarree (angivet i % af undersøgte sektioner n=20)

I forbindelse med udvikling af diagnostik til flokniveau samt udarbejdelse af de diagnostiske anbefalinger er anvendt en grænse for, hvornår et diarree-udbrud er infektiøst og dermed hvornår flokbehandling skønnes relevant i en staldsektion. Definitionen for infektiøse diarreeudbrud er således sat ved at $\geq 15\%$ af grisene i en flok (sektion/sti) skal have bakteriel betinget tarmbetændelse. Baggrunden for en grænse på 15% er dels en vurdering fra forskere og praktiserende dyrlæger samt forekomsten af bakteriel tarmbetændelse i de tidligere omtalte 20 diarreeudbrud. Det vurderes således på nuværende viden, at antibiotikabehandling som udgangspunkt ikke er nødvendig i de staldsektioner, hvor mindre end 15% af grisene har en påviselig bakteriel tarmbetændelse. I praksis skal ophør/undladelse af antibiotikabehandling ved diarree dog altid ledsages af en klinisk vurdering af, om antibiotikabehandling kan undlades i den enkelte besætning uden påvirkning af grisenes velfærd.

Definition af forskellige typer af gødningskonsistens fremgår af figur 2. Grænsen mellem normal og diarree-gødning er en flydende overgang. Normal gødning vil have evne til at opretholde en form fra pølselignede til små bunker og vil beholde sin form, hvis den opsamles i et gødningsbæger. Diarree-gødning vil derimod altid flyde ud på såvel gulv/spalter som ved opsamling i et gødningsbæger.

Bestemmelse af tørstof kan bruges som et mere objektive mål for gødningskonsistens, hvor gødning med mere end 18% tørstof betragtes som normal.



Figur 2 Vejledning i vurdering af diarre

Resultater og diskussion

Påvisning af diarre på individniveau

Diarre er defineret ved en hyppigere afsætning af gødning indeholdende en øget koncentration af vand [2]. I praksis afhænger diarrediagnostik så af bedømmelse af gødningskonsistens, da hyppigheden af gødningsafsætning for den enkelte gris ikke kan vurderes under daglige praktiske forhold.

Diarrediagnostik hos den enkelte gris kræver således som udgangspunkt, at gødningskonsistensen vurderes dagligt, for at være helt sikker på om grisen har diarre eller ej. Dette er ikke realistisk under praktiske forhold, hvor den enkelte medarbejder skal tilse et stort antal dyr hver dag.

Gødningstilsmudsning af bagparten og rødme af endetarmsområdet kan bruges til at vurdere om den enkelte gris har diarre, figur 3. Desværre finder man mindre end 1 ud af 5 grise med diarre ved udelukkende at anvende disse to kliniske tegn [3-4].



Figur 3. Gris med gødningstilsmudsning af bagparten

Derfor bør alle grise med gødningstilsmudsning af bagparten og rødme af endetarmsområdet behandles med antibiotika. Herudover skal de grise som observeres med grødet/vandig gødningskonsistens behandles med antibiotika. Enkeltdyrsbehandling vil dog alligevel medføre en manglende behandling af nogle grise med diarre samt behandling af andre grise, som ikke har diarre.

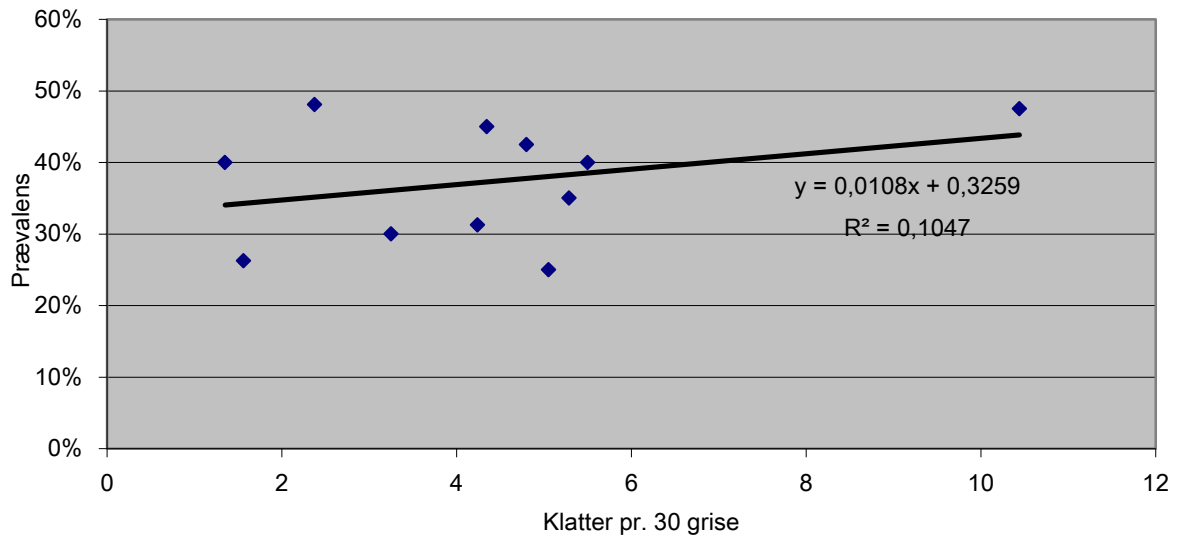
Niveauet af disse fejlbehandlinger ved forskellig forekomst af diarre kan beregnes ved hjælp af de kliniske tegns diagnostiske sensitivitet og specificitet. Resultatet af disse beregninger er angivet i tabel 1 for stalde, hvor henholdsvis 5, 15 og 30 % af grisene har diarre.

Tabel 1. Under- og overbehandling af diarregrise ved injektionsbehandling af alle grise med gødningstilsmudsning af bagparten og rødme af endetarmsområdet

Diarreforekomst (%) i en stald med 1000 grise	Antal grise med diarre	Antal grise der behandles	Antal grise med diarre der behandles	Antal grise uden diarre der behandles	Antal grise med diarre der mangler behandling
5 % af grisene i stalden	50	28	9	19	41
15 % af grisene i stalden	150	45	28	17	122
30 % af grisene i stalden	300	70	56	14	244

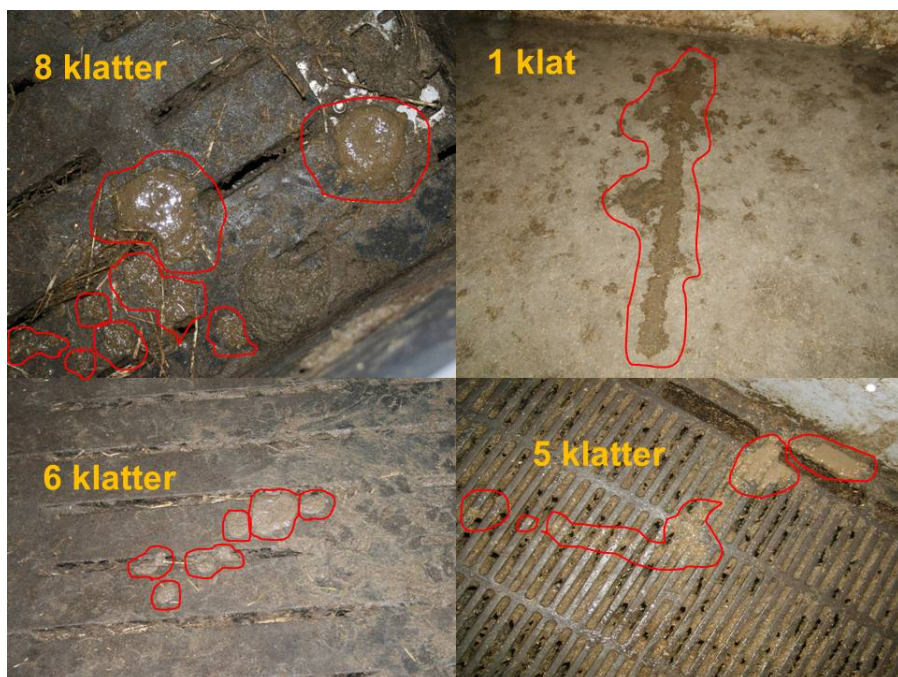
Påvisning af diarre på flokniveau

Under praktiske forhold er den bedste nuværende metode til vurdering af diarreforekomsten i en gruppe af grise, bedømmelse af antallet diarre-klatter i stibunden. Sammenhængen mellem diarreklatter og forekomsten af diarre ses i figur 4.

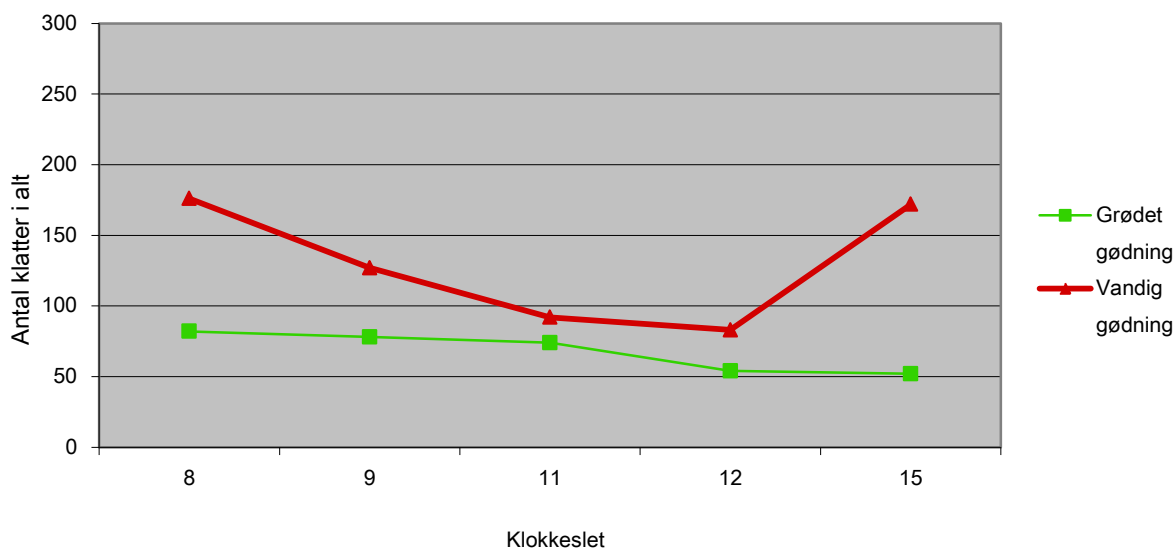


Figur 4. Diarre prævalens og stibundsklatter

Antallet af diarreklatter vurderes ud fra de retningslinjer, der er vist i figur 5. Niveauet af diarre-klatter i en sti kan imidlertid ændre sig hen over dagen i nogle besætninger, figur 6, [5] og antallet bør derfor vurderes først eller alternativt sidst på dagen for at undgå, at man overser et udbrud af diarre. I praksis vil der være staldsektioner uden eller med et meget lavt niveau af diarreklatter, hvor der kan være en høj forekomst af tarmbetændelse [6]. På nuværende tidspunkt er det derfor ikke muligt på et klinisk grundlag (diarreklatter), at lave en helt sikker vurdering af forekomsten af tarmbetændelse. Baseret på de nuværende erfaringer fra de forskellige forskningsprojekter, må det samlet set anbefales, at antibiotikabehandling på flokniveau indledes, når der i gennemsnit er 1-3 klatter pr. sti i en staldsektion (gælder ved 18-50 grise pr. sti).



Figur 5. Vejledning i tælling af diarreklat. Hele stibunden undersøges. En isoleret diarreklat tælles som én klat. To sammenhængende diarreklat tælles som én klat. En streg af diarre tælles som én klat. To tilstødende men ikke sammenhængende diarreklat tælles som to klatter



Figur 6. Dagvariation i antallet af diarreklat på gulvet (30 stier).

Vurdering af forekomst af og årsag til tarmbetændelse hos enkeltgrise

Påvisning af årsag til en tarmbetændelse hos individuelle grise kan f.eks. være relevant når et sygdomsproblem har et omfang, der kun kræver antibiotikabehandling på enkeltdyrsniveau. Dette kan f.eks. være ved kliniske problemer med diarre hos et mindre antal grise i flere forskellige staldsektioner (spadisk forekomst), hvor det ønskes vurderet om diarre-tilstanden kræver antibiotikabehandling.

Diagnostik bør som udgangspunkt omfatte samtidig undersøgelse for *L. intracellularis*, *E. coli* og *B. pilosicoli*. Erfaringer fra både forskning og praksis viser, at disse 3 infektioner dækker hovedparten af årsagerne til diarre i Danmark. I sjældnere tilfælde kan der forekomme problemer med andre infektioner som bl.a. *Salmonella* spp., svinedysenteri og andre *Brachyspira* spp. Undersøgelse for disse infektioner kan f.eks. være relevant ved en konkret mistanke, ved negative laboratoriesvar eller i tilfælde hvor en iværksat behandling eller forebyggende tiltag ikke har den forventede effekt.

Ved diagnostik skal prøvematerialet udtages fra karakteristiske akutte sygdomstilfælde.

Blandingsinfektioner på besætningsniveau må forventes og undersøgelsen bør derfor optimalt omfatte 3-5 grise.

Undersøgelserne kan omfatte aflivning af grise med udtagelse af et helt stykke af tyndtarmen (jejunum) til dyrkning samt væv fra tyndtarm (ileum) og tyktarm (bunden af colon-spiralen) til histologi, figur 7. Det hele stykke af jejunum skal ikke formalinfixeres og undersøges ved dyrkning for *E. coli*. Vævet fra ileum og colon skal derimod fikseres i formalin indenfor 2 minutter efter aflivning.

Vævsstykket fra ileum undersøges for *L. intracellularis* ved Immunhistokemi og vævsstykket fra colon undersøges for *B. pilosicoli* ved FISH. Alternativt kan der foretages dyrkning for *B. pilosicoli* på et stykke af tyktarmen (bunden af colon-spiralen), som ikke er formalinfixeret, hvilket dog har en væsentlig dårligere diagnostisk sensitivitet.



Figur 7. Materiale til FISH fra tyktarm udtages mellem de 2 snore.

Diagnostisk sensitivitet og specificitet for disse undersøgelser er angivet i tabel 2.

Tabel 2. Diagnostisk sensitivitet og specificitet ved undersøgelse af aflivede grise for tarmbetændelse

Undersøgelse fra aflivede grise	Diagnostisk sensitivitet	Diagnostisk specificitet
Dyrkning fra tyndtarm for <i>E. coli</i> (Hæmolytiske <i>E. coli</i> i renkultur eller mange i blandingsflora)	73 %	100 %
Immunhistokemi på tyndtarm (ileum) for <i>L. intracellularis</i>	100 %	93 %
FISH på tyktarm for <i>B. pilosicoli</i>	80 %	96 %
Dyrkning fra tyktarm for <i>B. pilosicoli</i>	35 %	95 %

Et alternativ til aflivning af grise er gødningsprøver som kan undersøges for *L. intracellularis*, *E. coli* F4 + F18 og *B. pilosicoli* ved kvantitativ PCR (qPCR). Dette har dog en væsentlig ringere sensitivitet for *B. pilosicoli* sammenlignet med FISH undersøgelse på tyktarm.

Som følge af den udbredte forekomst af *L. intracellularis* er det ikke alle qPCR positive prøver, der skal tillægges en sygdomsmæssig betydning. For *L. intracellularis* skal den enkelte prøve indeholde mere end 4,8 log₁₀ *L. intracellularis* bakterier pr. gram gødning [7].

Diagnostisk sensitivitet og specificitet for qPCR i relation til de 3 bakterier er angivet i tabel 3. Som følge af den lave forekomst af F4 positive *E. coli*, har diagnostisk sensitivitet og specificitet ikke kunnet vurderes for denne *E. coli* type.

Tabel 3. Diagnostisk sensitivitet og specificitet ved undersøgelse af grise for tarmbetændelse ved brug af gødningsprøver

Undersøgelse af gødningsprøver fra levende grise	Diagnostisk sensitivitet	Diagnostisk specificitet
qPCR <i>E. coli</i> F4 fra gødningsprøver	-	-
qPCR <i>E. coli</i> F18 fra gødningsprøver	76 %	80 %
qPCR <i>L. intracellularis</i> fra gødningsprøver (≥4,8 log ₁₀ <i>L. intracellularis</i> bakterier pr. gram gødning)	84 %	93 %
qPCR <i>B. pilosicoli</i> fra gødningsprøver	44 %	98 %
<i>E. coli</i> dyrkning fra gødningsprøver (Hæmolytiske <i>E. coli</i> i renkultur, mange i blandingsflora eller få i blandingsflora)	81 %	98 %
<i>B. pilosicoli</i> dyrkning fra gødningsprøver	25 %	99 %

Undersøgelserne for *E. coli* og *B. pilosicoli* kan erstattes af aerob og anaerob dyrkning fra gødningsprøver. Dette giver i modsætning til qPCR samtidigt mulighed for resistensundersøgelse, men har en lavere sensitivitet for *B. pilosicoli*. Diagnostisk sensitivitet og specificitet ved dyrkning ses i tabel 3.

Fortolkningen af de enkelte laboratoriesvar afhænger af den sande forekomst af de forskellige typer af tarmbetændelse. De tidligere definerede positive (PPV) og negative (NPV) prædiktive værdier kan hjælpe til at fortolke et laboratoriesvar og vurdere hvilken test, der er bedst i forskellige situationer.

Samlet set vil undersøgelse af gødningsprøver ved qPCR medføre en lidt større usikkerhed ved det pågældende laboratoriesvar sammenlignet med undersøgelser fra aflivede grise. Undersøgelser af gødningsprøver ved qPCR vil dog i de fleste tilfælde fint kunne anvendes som et billigere alternativ, da forskellen under praktiske forhold må vurderes som ubetydelig.

Hvilken diagnostisk undersøgelse, der skal vælges i en aktuel situation vil dog altid afhænge dels af formål og ønske med den diagnostiske undersøgelse og dels af de aktuelle priser samt muligheder på de tilstedeværende laboratorier. Har man f.eks. specifik mistanke om *B. pilosicoli* så bør aflivning og FISH undersøgelse gennemføres som følge af den væsentlige højere diagnostiske sensitivitet sammenlignet med dyrkning eller qPCR undersøgelserne.

Vurdering af forekomst af og årsag til tarmbetændelse i forbindelse med diarre på flokniveau

Påvisning af årsag til en tarmbetændelse hos grupper af grise med diarre er f.eks. relevant i forbindelse med undersøgelse af diarre, der kræver flokmedicinering på sektionsniveau.

Diagnostik bør omfatte samtidig undersøgelse for *L. intracellularis*, *E. coli* og *B. pilosicoli*. Erfaringer fra både forskning og praksis viser, at disse 3 infektioner dækker hovedparten af årsagerne til diarre i Danmark. I sjældnere tilfælde kan der forekomme problemer med andre infektioner som bl.a. *Salmonella* spp., svinedysenteri og andre *Brachyspira* spp. Undersøgelse for disse infektioner kan f.eks. være relevant ved en konkret mistanke, ved negative laboratoriesvar eller i tilfælde hvor en iværksat behandling eller forebyggende tiltag ikke har den forventede effekt.

Ved diagnostik skal prøvematerialet udtages fra sektioner med karakteristiske akutte sygdomstilfælde. Blandingsinfektioner med *L. intracellularis*, *E. coli* og/eller *B. pilosicoli* på besætningsniveau må forventes og undersøgelsen gennemføres derfor bedst og billigst ved hjælp af sokke-prøver.

Indledningsvist tælles alle diarreklatrer på gulvet af stierne i den pågældende sektion, der undersøges. Tælling af diarreklatrer gennemføres som beskrevet i figur 5. Fra staldgangen tælles antallet af diarreklatrer på gulvet i alle stier i sektionen (undtagen sygestier). Er der mindre end 1,5 klatrer pr. sti

er der en meget lille sandsynlighed for, at niveauet af grise med tarmbetændelse er større end 15 %, og det vil derfor som udgangspunkt ikke være relevant at foretage yderligere undersøgelse.

Er der mere end 1,5 diarreklatte pr. sti udtages en sokkeprøve fra sektionen. Sokkerne er en standard sok figur 11, der fremadrettet kan erhverves hos Dianova. Anvendelse af standard sok er vigtigt, da undersøgelserne ved qPCR ellers ikke kan gennemføres korrekt.

Sokkeprøven kan også gennemføres uden optælling af diarreklatte, hvilket dog påvirker testens diagnostiske egenskaber (se senere i dette afsnit)



Figur 11. Standard sok til diarrediagnostik

Udtagelse af sokkeprøver:

- a. Gå ind i den første sti til venstre i den sektion, der ønskes undersøgt
- b. På hver støvle påføres plastikovertræk
- c. På hver støvle påføres herefter standard sok udenpå plastikovertræk
- d. Gå med sokkerne på støvlerne igennem alle stier (undtagen sygestier) ved at gå på spalter langs staldgangen, hvor der typisk er mest gødning i stibunden.
- e. I den sidste sti fjernes begge sokker fra støvlerne og puttes i en plasticpose.

Materialet sendes til laboratoriet på Veterinærinstituttet, hvor de undersøges ved qPCR for *L. intracellularis*, *E. coli* F4 + F18 og *B. pilosicoli*.

Fortolkning af qPCR resultatet kan foretages i 2 trin. Først vurderes det samlede niveau af bakteriel tarmbetændelse, hvor der ikke tages hensyn til de enkelte bakterier arter. Hvis det samlede antal

sygdomsfremkaldende bakterier (sum af de enkelte bakterier) er større end 35.000 bakterier/gram (4,5 log₁₀ bakterier/gram) gødning på sokken, så er der en meget høj sandsynlighed for, at niveauet af grise med bakteriel tarmbetændelse i sektionen er større end 15 % (defineret som infektiøs diarre).

Diagnostisk værdi i forhold til påvisning af infektiøse diarreudbrud som kræver antibiotikabehandling (>15 % af grise i sektionen med tarmbetændelse) fremgår af tabel 4.

Tabel 4. Diagnostiske egenskaber ved sokke-prøver til at påvise om diarreudbrud er infektiøse (>15 % af grise i sektionen med tarmbetændelse)

Diagnostisk sensitivitet	Diagnostisk specificitet	Positiv prædiktiv værdi	Negativ prædiktiv værdi
99 %	80 %	94 %	96 %

Herefter vurderes hvilke bakterier, der er årsag til tarmbetændelse i den undersøgte staldsektion. De bakterier, som påvises i sokkeprøven, kan alle sandsynligvist være medvirkende til tarmbetændelse i den pågældende besætning. Udskillelsesniveaueet i sokkeprøven udtrykker den gennemsnitlige udskillelse i gødningen hos de grise, som er opstaldet i den sektion, hvor sokkeprøven blev udtaget [10].

Tælling af diarreklatrer kan være forbundet med usikkerhed [11] og det er derfor muligt at undlade denne optælling. Sokkeprøver kan således også undersøges uden der foretages en indledningsvis optælling af diarreklatrer i de undersøgte stier. Dette betyder, at den diagnostiske værdi forringes i relation til at vurdere om et diarreudbrud er infektiøst og dermed behandlingskrævende. Fortolkning af sokkeprøven foretages på samme måde som tidligere. Først vurderes det samlede niveau af bakteriel tarmbetændelse, hvor der ikke tages hensyn til de enkelte bakterier arter. Hvis det samlede antal sygdomsfremkaldende bakterier (sum af de enkelte bakterier) er større end 35.000 bakterier/gram (4,5 log₁₀ bakterier/gram) gødning på sokken, så er der en meget høj sandsynlighed for, at niveauet af grise med bakteriel tarmbetændelse i sektionen er større end 15 %. De påviste bakterier kan alle sandsynligvist være medvirkende til tarmbetændelse i den pågældende besætning.

Ved denne fremgangsmåde er den diagnostiske sensitivitet = 0,99, diagnostiske specificitet = 0,96, positiv prædiktiv værdi = 0,88 og negativ prædiktiv værdi = 0,95 ved sokkeprøver til at påvise om diarreudbrud er behandlingskrævende. Konsekvensen ved at undlade optælling af diarreklatrer er således, at der udpeges færre af de ikke-infektiøse diarreudbrud (60 % kontra 80 %).

Undersøgelse af gentagne sokkeprøver fra 3 på hinanden følgende hold i den samme besætning har vist, at man må forvente en del variation i resultatet fra et hold grise til det næste [12]. Der er altså tilsyneladende en variation i diarre årsager og infektioner mellem de enkelte hold indenfor den samme besætning. Bl.a. ses der også en vekslen mellem infektiøse og ikke-infektiøse diarre typer. Dette har specielt betydning, når det skal vurderes om antibiotikabehandling af diarre kan undlades.

I besætninger hvor 2-3 gentagne sokkeprøver har vist at diarreen er ikke-infektøs må det antages, at der er en rimelig sandsynlighed for, at den undersøgte diarretype ikke behøver antibiotikabehandling. Det skal dog efterprøves i praksis, alternativt kan der fortsættes med en videre laboratorieundersøgelse for de tarminfektioner, der ikke er inkluderet i sokke-prøven. Endvidere kan diarre, som opstår på et andet tidspunkt i smågriseperioden, godt have en infektøs baggrund. Negative sokke-prøver i en besætning er således ikke ensbetydende med, at antibiotikabehandling af alle diarretyper i en besætning kan undlades.

Erfaringer fra forskningsprojekter viser, at det på baggrund af diarreklatter i stibunden kan være vanskeligt, at finde det rigtige behandlingstidspunkt [6]. Identifikation af det rigtige behandlingstidspunkt er således vanskeligt i praksis, hvor der på den ene side findes ikke-infektøse diarre-typer og på den anden side findes subkliniske tilfælde af tarmbetændelse uden forekomst af diarre.

Sokke-prøver kan bidrage til at finde det optimale behandlingstidspunkt for flokmedicineringer i den enkelte besætning. Der kan f.eks. udtages sokke-prøver ved diarre i forskellige aldersgrupper i en besætning og herved fastlægge hvilke diarretyper, der sandsynligvis er non-infektøse og hvilke, der er infektøse. Der kan også udtages sokke-prøver fra sektioner eller stier uden diarre for at afklare om der er subkliniske tarminfektioner, som skal behandles. Antallet af bakterier i sokkeprøven udtrykker den gennemsnitlige udskillelse i gødningen hos de grise, som er opstaldet i den sektion, hvor sokkeprøven blev udtaget [10]. Antallet af bakterier i sokke-prøven kan således bruges til at vurdere sværhedsgraden af bakteriel tarmbetændelse ved de grise hvor sokke-prøven er udtaget (se også senere afsnit om produktionsøkonomisk vurdering af *L. intracellularis* infektion).

Det er ofte et ønske at foretage resistensbestemmelse for *E. coli* og/eller *B. pilosicoli* ved laboratorieundersøgelser. Derimod er det ikke muligt at lave resistensbestemmelse for *L. intracellularis*. Resistensbestemmelse er ikke muligt ved de qPCR undersøgelser, der foretages ved sokke-prøver. Resistensbestemmelse kræver derfor, at der foretages dyrkning for *E. coli* eller *B. pilosicoli* fra sokkerne. Det er teknisk muligt at foretage en dyrkning fra sokkeprøver, men fortolkning af dyrkning samt resistensbestemmelse fra sokkeprøver er ikke undersøgt videnskabeligt.

Diagnostik i forbindelse med fravænningsdiarre

Fravænningsdiarre skyldes helt overvejende *E. coli* selvom f.eks. Rotavirus og coccidier potentielt kan være involveret som komplicerende faktorer. Diagnostik vil derfor ofte have det formål at gennemføre resistensbestemmelse.

Prøvematerialet skal udtages fra karakteristiske akutte sygdomstilfælde. Blandingsinfektioner er normalt ikke et problem. Er de kliniske fund helt karakteristiske for fravænningsdiarre kan undersøgelsen begrænses til 1-2 akut syge grise. Er det sygdomsmæssige problem mere domineret

af dødsfald og/eller utrivelighed bør minimum 3 grise undersøges, da andre sygdomme er potentielle differentialdiagnoser.

Undersøgelserne kan omfatte aflivning af grise med udtagelse af materiale fra tyndtarm (jejunum) til dyrkning for *E. coli*. Grisene kan enten indsendes som uåbnede kadavere, eller der kan udtages tyndtarm, som indsendes. Alternativt udtages gødningsprøver fra levende grise eller frisk afsat gødning fra stibunden, som undersøges for *E. coli*.

I de tilfælde, hvor det ønskes vurderet om f.eks. Rotavirus og coccidier er involveret, kan laboratorieundersøgelser suppleres med disse mikrobiologiske undersøgelser.

Vurdering af den produktionsøkonomiske effekt af *Lawsonia intracellularis*

L. intracellularis er kendetegnet ved at infektionen kan give anledning til produktionsøkonomiske tab i form af uens tilvækst og øget foderforbrug med eller uden samtidige kliniske tegn på diarre. Samtidigt er vaccination mod infektionen en mulighed. *L. intracellularis* er imidlertid ikke altid associeret med nedsat produktivitet. Derfor kan der være flere situationer, hvor det er relevant at vurdere den negative effekt af *L. intracellularis* i den enkelte besætning.

Kvantitativ PCR undersøgelse for *L. intracellularis* på gødningsprøver kan anvendes til at vurdere effekt af infektionen på en gruppe af grise. Dette gøres bedst ved at udtage gødningsprøver på det tidspunkt i smågrise eller slagtesvineperioden, hvor den gennemsnitlige udskillelse af *L. intracellularis* bakterier er størst.

Kendes tidspunktet for maksimal *L. intracellularis* infektion i besætningen udtages prøver fra denne aldersgruppe. Dette kan f.eks. være baseret på en serologisk profil, hvor tidspunktet for udvikling af antistoffer (serokonvertering) vil være nogenlunde sammenfaldende med det maksimale udskillestidspunkt. Alternativt kan der udtages prøver til kvantitativ PCR fra flere aldersgrupper med f.eks. 14 dage imellem aldersgrupperne.

For at reducere laboratorieomkostningerne kan der anvendes sokkeprøver. Den enkelte sokkeprøve udtages som tidligere beskrevet i denne rapport, men tælling af diarreklatte er ikke nødvendigt.

Sokkeprøven kan udtages i en enkelt sti eller ved at gå med samme sok i flere stier indenfor en sektion. Sti eller sektion skal være repræsentativ for den pågældende aldersgruppe i besætningen.

En specifik vurdering af effekten af *L. intracellularis* på grisenes tilvækst skal foretages ud fra de samlede forhold i den enkelte besætning. Følgende kan dog anvendes som grove retningslinier.

Niveauer over 10^5 - 10^7 *L. intracellularis* bakterier pr. gram gødning (5,0-7,0 \log_{10} bakterier/gram) i en sokkeprøve vurderes at være associeret med en negativ påvirkning af grisenes tilvækst.

Denne negative effekt på tilvæksten var i et studie med smågrise 110g dagligt fra det tidspunkt prøverne blev udtaget og 19 dage frem, når det gennemsnitlige niveau i en sti oversteg 10^7 *L. intracellularis* bakterier pr. gram gødning (7,0 \log_{10} bakterier/gram) [8]. I dette studie havde 75 % af grisene diarree i en eller flere dage under observationsperioden.

Hos slagtesvin er det påvist at individuelle grise med under 10^5 *L. intracellularis* pr. gram gødning (5,0 \log_{10} bakterier/gram) voksede 872g/dag. Slagtesvin med mellem 10^5 til 10^7 *L. intracellularis* pr. gram gødning (5,0-7,0 \log_{10} bakterier/gram) voksede 807 g/dag og slagtesvin med over 10^7 *L. intracellularis* pr. gram gødning (7,0 \log_{10} bakterier/gram) voksede 483 g/dag i en observationsperiode på 6-8 uger.

I dette studie var der kun en negativ effekt af *L. intracellularis*, når grisene havde diarree [9].

Konklusion

Alle grise med gødningstilsmudsning af bagparten og rødme af endetarmsområdet bør behandles mod diarree. Herudover bør alle grise, der observeres med grødet/vandig gødningskonsistens behandles mod diarree. Behandling af diarree på flokniveau bør indledes når der i gennemsnit er 1-3 klatter pr. sti i en sektion (gælder ved 18-50 grise pr. sti).

Diagnostik i relation til vurdering af forekomst og årsag til tarmbetændelse hos enkelt dyr kan i dag håndteres ved vævs- eller gødningsprøver. Tilsvarende vurdering af forekomst og årsag til tarmbetændelse i forbindelse med diarree på flokniveau kan undersøges ved sokkeprøver. Betydning af infektion med *L. intracellularis* kan vurderes ved at undersøge den kvantitative forekomst i en sokkeprøve afsat på det tidspunkt, hvor udskillelsen vurderes at være højest.

De samlede anbefalingerne i rapporten skal betragtes som de bedste anbefalinger baseret på den nuværende viden. Det må forventes at anbefalingerne skal justeres løbende som følge af nye forskningsresultater samt erfaringer fra praksis.

Referencer

- [1] Pedersen, K.S., 2012. PCR diagnosis of enteritis caused by *Lawsonia intracellularis* in growing pigs. PhD-Thesis. University of Copenhagen, p. 10-11
- [2] Radostits, O.M., Gay, C.C., Blood, D.C., Hinchcliff, K.W., 2000. Diseases of the alimentary tract – 1. In: Veterinary Medicine , 9th ed. WB Saunders, London, p. 173.
- [3] Pedersen, K.S., Jakobsen, A., Nielsen, J.P., 2013. Application of concurrent clinical signs for detection of diarrhoea in nursery pigs. Proceedings 5th ESPHM (European Symposium of Porcine Health), Maj 22-24, 2013, Edinburgh United Kingdom, p. 150.
- [4] Pedersen, K.S., Stege, H., Bækbo., Nielsen, J.P. Clinical predictors of diarrhoea. Proceedings 3. ESPHM (European Symposium of Porcine Health), May 25th - 27th, 2011, Espoo Finland, p. 186.
- [5] Pedersen, K.S., Nielsen, J.P. Diurnal variation of diarrhoeic faecal pools on weaner pig pen floors. Proceedings 3. ESPHM (European Symposium of Porcine Health), May 25th - 27th, 2011, Espoo Finland, p. 188.
- [6] Pedersen, K.S., Pedersen, L.L., Jakobsen, A., Angen, Ø., Nielsen, J.P., 2013. Diarrhoeic pools at pen floors is a poor indicator of high level of intestinal disease in nursery pigs. Proceedings 5th ESPHM (European Symposium of Porcine Health), Maj 22-24, 2013, Edinburgh United Kingdom, p. 151.
- [7] Pedersen, K.S., Stege, H., Jensen, T., Guedes, R.M.C., Ståhl, M., Nielsen, J.P., Angen, Ø., Diagnostic performance of quantitative real-time PCR for detection of growing pigs with proliferative enteropathy under field condition. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 25 (3) p.336-340.
- [8] Pedersen, K.S., Skrubel, R., Ståhl, M., Angen, Ø., Stege, H., Nielsen, J.P., 2012. Prediction of the growth retarding effect of *Lawsonia intracellularis* using mean q-PCR results at pen-level. Proceedings 22nd. IPVS (International Pig Veterinary Society), June 10th - 13th, 2012, Jeju Korea, p. 669.
- [9] Johansen, Markku, 2011. Betydning af *Lawsonia* og gødningscore for daglig tilvækst i slagtesvin, [Meddelelse nr. 903, Videncenter for Svineproduktion](#).
- [10] Pedersen, K.S., Johansen, M., Jorsal, S.E., Nielsen, J.P., Bækbo, P., Angen, Ø., 2014. Pooling of porcine fecal samples for quantification of *Lawsonia intracellularis* by real-time polymerase chain reaction. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 26 (3) p. 342-345.
- [11] Pedersen, K.S., 2013. Inter-observer agreement for enumeration of diarrhoeic faeces pools on the pen floor. Proceedings 5th ESPHM (European Symposium of Porcine Health), Maj 22-24, 2013, Edinburgh United Kingdom, p. 149.
- [12] Pedersen, Ken Steen., Nielsen, Elisabeth Okholm, Johansen, Markku., Angen, Øystein, Sven Erik, Jorsal, Nielsen, Jens Peter., Dupont, Nana, Bækbo, Poul, 2014. Sokke-prøver giver nyttig viden om diarre hos smågrise, [Erfaring nr. 1406, Videncenter for Svineproduktion](#).

Aktivitetensnr.: 075-359690

Journalnr.: 3412-08-02226

//PB//

VIDENCENTER FOR SVINEPRODUKTION

Tlf.: 33 39 40 00

Fax: 33 11 25 45

vsp-info@lf.dk



en del af

Landbrug & Fødevarer

Ophavsretten tilhører Videncenter for Svineproduktion. Informationerne fra denne hjemmeside må anvendes i anden sammenhæng med kildeangivelse.

Ansvar: Informationerne på denne side er af generel karakter og søger ikke at løse individuelle eller konkrete rådgivningsbehov.

Videncenter for Svineproduktion er således i intet tilfælde ansvarlig for tab, direkte såvel som indirekte, som brugere måtte lide ved at anvende de indlagte informationer.