



Sveriges lantbruksuniversitet  
Swedish University of Agricultural Sciences

**Fakulteten för veterinärmedicin  
och husdjursvetenskap**  
Institutionen för biomedicin och  
veterinär folkhälsovetenskap

# **Förekomst av specifika bakterier i färskfoder innehållande produkter från fjäderfä åt hund**

*Lovisa Staaf Hästö*

*Uppsala  
2018*

*Examensarbete 30 hp inom veterinärprogrammet*

*ISSN 1652-8697  
Examensarbete 2018:10*



# Förekomst av specifika bakterier i färskfoder innehållande produkter från fjäderfä åt hund

## Occurrence of specific bacteria in raw dog food containing products of fowl

*Lovisa Staaf Hästö*

**Handledare:** *Ingrid Hansson, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU*

**Biträdande handledare:** *Lise-Lotte Fernström Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU*

**Biträdande handledare:** *Camilla Wikström, avdelningen för mikrobiologi, Statens veterinärmedicinska anstalt.*

**Examinator:** *Sofia Boqvist, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU*

*Examensarbete i veterinärmedicin*

**Omfattning:** 30 hp

**Nivå och fördjupning:** Avancerad nivå, A2E

**Kurskod:** EX0830

**Utgivningsort:** Uppsala

**Utgivningsår:** 2018

**Delnummer i serie:** Examensarbete 2018:10

**ISSN:** 1652-8697

**Elektronisk publicering:** <http://stud.epsilon.slu.se>

**Nyckelord:** *Färskfoder, BARF, Salmonella, Campylobacter, Enterobacteriaceae, Clostridium perfringens*

**Key words:** *Raw food diet, BARF, Salmonella, Campylobacter, Enterobacteriaceae, Clostridium perfringens*

**Sveriges lantbruksuniversitet**  
**Swedish University of Agricultural Sciences**

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap  
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap



## SAMMANFATTNING

Färskfoder och BARF ”ben och rå föda” har utvecklats till att bli ett allt mer populärt utfodringsalternativ för hundar. Dess användning är dock även associerad med viss debatt då icke värmebehandlade köttprodukter kan vara förenade med en ökad förekomst av bakterier, jämfört med övriga kommersiella utfodringsalternativ. Vissa bakterier kan orsaka förskämning av kött och indikerar nedsatt hygienisk kvalitet. Andra bakterier kan vara potentiella patogener, både för hundar som konsumerar färskfodret, men även för hundägare som hanterar fodret och i ett senare skede också hundens avföring där dessa bakterier kan utsöndras.

I denna studie undersöktes 30 färskfoderprover innehållande slaktprodukter av fjäderfä avseende den kvalitativa förekomsten av *Salmonella* spp. och *Campylobacter* spp. samt den kvantitativa förekomsten av *Enterobacteriaceae* och *Clostridium perfringens*. Proverna var inköpta i Uppsala, Örebro, Borlänge och Falun. Av dessa 30 prov var åtta av svenskt ursprung, åtta av finskt ursprung, sex av norskt ursprung och åtta av brittiskt ursprung. *Enterobacteriaceae* påvisades i samtliga färskfoderprover, där bakteriemängden varierade mellan log 1,8 – 6,1/g färskfoder. *Clostridium perfringens* påvisades i totalt 10 (33,3 %) av 30 prover, varav sex av proverna var av norskt ursprung, ett av svenskt ursprung och tre av finskt ursprung. Samtliga prover påvisade en spridning avseende *C. perfringens* mellan log 1,0 – log 2,4/g färskfoder. *Campylobacter coli* påvisades i ett prov med brittiskt ursprung och *Campylobacter jejuni* påvisades i ett prov med norskt ursprung. *Salmonella* Typhimurium påvisades i ett prov med svenskt ursprung.

## SUMMARY

Raw dog food and BARF “bone and raw food” has become an increasingly popular feeding alternative for dogs. Its use is however associated with some debate due to the fact that raw meat is associated with a higher occurrence of bacteria compared to other commercial feeding alternatives. Some species of bacteria can cause spoilage of meat and indicate insufficient hygiene. Other bacterial species can however be pathogenic, both for dogs consuming the feed, but also for dog owners handling the feed and later on also handling the dog’s faeces in which these bacteria can be excreted.

In this study 30 samples of raw food containing slaughter products of poultry were examined regarding presence of *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. and quantification of *Enterobacteriaceae* and *Clostridium perfringens*. The products were purchased in the regions of Uppsala, Örebro, Borlänge and Falun. A total of eight samples originated from Sweden, eight from Finland, six from Norway and eight from Great Britain. *Enterobacteriaceae* could be quantified in all samples, with bacterial levels between log 1,8 and 6,1/g raw food. *Clostridium perfringens* could be quantified in 10 (33,3%) out of 30 samples, six of them were of Norwegian origin, one of Swedish origin and three of Finish origin. The samples in which *C. Perfringens* was detected contained bacterial levels between log 1,0 and 2,4 log/g raw food. *Campylobacter coli* was detected in one sample of British origin and *Campylobacter jejuni* was detected in one sample of Norwegian origin. *Salmonella* Typhimurium was detected in one sample of Swedish origin.



# INNEHÅLL

INLEDNING .....	1
LITTERATURÖVERSIKT .....	1
Definition färskfoder .....	1
Nutritionell sammansättning.....	2
Bakteriekontamination .....	3
<i>Enterobacteriaceae</i> .....	4
Taxonomi .....	4
<i>Enterobacteriaceae</i> som indikatororganism.....	4
Patogenicitet inom <i>Enterobacteriaceae</i> .....	5
<i>Salmonella</i> spp. ....	6
Taxonomi .....	6
Patogenicitet <i>Salmonella</i> spp.....	6
Svenska salmonella-programmet .....	7
<i>Clostridium perfringens</i> .....	8
Taxonomi .....	8
Betydelse av <i>C. perfringens</i> inom broilerindustrin .....	8
Patogenicitet <i>C. perfringens</i> .....	8
Termotoleranta <i>Campylobacter</i> .....	9
Taxonomi .....	9
Epidemiologi .....	9
Patogenicitet <i>Campylobacter</i> spp. ....	9
MATERIAL OCH METODER.....	11
Färskfoder.....	11
<i>Enterobacteriaceae</i> .....	11
<i>Salmonella</i> spp. ....	11
<i>Clostridium perfringens</i> .....	12
Termotoleranta <i>Campylobacter</i> .....	12
RESULTAT .....	13
<i>Enterobacteriaceae</i> .....	13
<i>Salmonella</i> spp. ....	13
<i>Clostridium perfringens</i> .....	14
Termotoleranta <i>Campylobacter</i> .....	14
DISKUSSION .....	15
<i>Enterobacteriaceae</i> .....	15
<i>Salmonella</i> spp. ....	17
<i>Clostridium perfringens</i> .....	19
Termotoleranta <i>Campylobacter</i> .....	21
KONKLUSION.....	23
REFERENSER.....	24

## FÖRKORTNINGAR

AIEC	Adherentinvasiva <i>E. coli</i>
BARF	Ben och rå föda / Biologiskt anpassad rå föda
BG	Briljant-Grön-agar
CPE	<i>Clostridium perfringens</i> enterotoxin
EAEC	Enteroaggregerande <i>E. coli</i>
EHEC	Enterohemoragiska <i>E. coli</i>
EIEC	Enteroinvasiva <i>E. coli</i>
EPEC	Enteropatogena <i>E. coli</i>
ETEC	Enterotoxinogena <i>E. coli</i>
FDA	US Food and Drug Administration
mCCDA	Modified Charcoal Cephooperazone Desoxycholat-agar
MSRV	Selektiva Modified Semisolid Rappaport Vassiliadis
NTEC	Nekrotoxinogena <i>E. coli</i>
STEC	Shigatoxinproducerande <i>E. coli</i>
SVA	Statens Veterinärmedicinska Anstalt
TSC	Tryptose Sulphite Cycloserin-agar
VRGG	Violett-Rött Galla Glukos-agar
VTEC	Verotoxinproducerande <i>E. coli</i>
XLD	Xylos Lysin-Desoxycholate-agar

## INLEDNING

Färskfoder till hund har utvecklats till att bli ett allt mer populärt utfodringsalternativ inom hundvärlden. Detta foderval framhävs som ett smakligt (Morgan *et al.*, 2017) och naturligt alternativ med nutritionell överlägsenhet jämfört med övriga kommersiella hundfoder. Färskfoder anses dessutom kunna bidra till en förbättrad hud- och pälskvalité, immunfunktion och reducerad prevalens av kroniska gastrointestinala, allergiska och metabola rubbningar hos de hundar som ges detta foder (Billinghurst, 1993). Nyttan med färskfoder debatteras då rått kött är förenat med en ökad risk för bakteriell förekomst jämfört med övriga kommersiella alternativ. Vissa av dessa bakterier är även potentiella patogener för hund, varför konsumtion av färskfoder kan vara associerat med en ökad risk för infektion. De bakterier som beskrivits förekomma i färskfoder i tidigare studier är koliforma bakterier inklusive *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens* (Weese *et al.*, 2005), *Campylobacter* spp. (Bojanic *et al.*, 2016) och *Listeria monocytogenes* (Nemser *et al.*, 2014).

Flertalet förespråkare för färskfoderutfodring anser att de bakterier som existerar i färskfoder inte utgör en potentiell sjukdomsrisk för hundar vars gastrointestinalkanal är anpassad för utfodring med rått kött (Billinghurst, 1993). Faktum är dock att de bakterier som setts förekomma i färskfoder också i flertalet studier konstaterats utsöndras via faeces i högre grad hos hundar med gastrointestinala symptom jämfört med kliniskt friska individer (Weese *et al.*, 2001; Chaban *et al.*, 2010; Burnens *et al.*, 1992; Stone *et al.*, 1993). Kolonisation med dessa enteropatogener kan framförallt utgöra en hälsorisk hos individer med nedsatt immunförsvar såsom hundar i stressande miljöer, inskrivna på djursjukhus eller i kennlar där många individer är samlade på en på en avgränsad yta med ett högt smittryck. De bakterier som kan existera i färskfoder kan utöver den redan nämnda hälsoriskan för hundar även vara humanpatogena. Både hanteringen av färskfodret, hundens matskålar, den potentiella kontaminationen av köksutrustning och i ett senare skede även hundens faeces kan utgöra riskmoment för smittspridning av patogener med ursprung i färskfoder till människa. Denna aspekt är särskilt relevant för människor med nedsatt immunförsvar inklusive barn, äldre och immunosupprimerade individer (Weese *et al.*, 2005). Syftet med denna studie var att kvantifiera mängden *Enterobacteriaceae* och *Clostridium perfringens* samt analysera förekomsten av *Campylobacter* spp. och *Salmonella* spp. i färskfoder innehållande fågel ämnat för hund. Färskfoderprover inkluderade i studien var producerade i Sverige, Norge, Finland eller Storbritannien.

## LITTERATURÖVERSIKT

### Definition färskfoder

Färskfoder innehåller råa komponenter där den huvudsakliga beståndsdelen utgörs av rått kött från olika djurslag som nöt, gris och fjäderfä. Det kan dock ingå flertalet andra komponenter i färskfoder såsom inre organ, ätbara ben och grönsaker. Begreppet BARF myntades av Billinghurst och förkortningen står för ”Biologiskt anpassad rå föda” eller ”Ben och rå föda” och detta innehåller generellt mindre frukt och grönsaker jämfört med klassiskt färskfoder, men kan också innehålla ägg och mjölkprodukter. Billinghurst är en uttrycklig motståndare av spannmål i hundfoder varför detta inte får ingå i BARF men kan förekomma i annat färskfoder (Billinghurst, 2001).

Enligt Kommissionens förordning (EU) nr 142/2011 om genomförande av Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 1069/2009 om hälsobestämmelser för animaliska biprodukter och därav framställda produkter som inte är avsedda att användas som livsmedel och om genomförande av rådets direktiv 97/78/EG vad gäller vissa prover och produkter som enligt det direktivet är undantagna från veterinärkontroller vid gränsen<sup>1</sup> anges i artikel 14e att färskfoder huvudsakligen ska innehålla animaliska biprodukter tillhörande visst kategori-3 material som ej genomgått ytterligare konservering än kylning och frysning. Ytterligare specificering sker via Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 1069/2009 av den 21 oktober 2009 om hälsobestämmelser för animaliska biprodukter och därav framställda produkter som inte är avsedda att användas som livsmedel och om upphävande av förordning (EG) nr 1774/2002 (förordning om animaliska biprodukter)<sup>2</sup> anger i artikel 35a, 10a och 10b att färskfoder får innehålla delar av eller hela slaktkroppar alternativt delar av eller hela slaktkroppar av vilt som nedlagts och bedömts vara tjänliga som livsmedel men av kommersiella skäl trots detta inte är avsedda att användas som livsmedel. Det kan även ingå slaktkroppar från djur som slaktats på ett slakteri och genomgått en besiktning före slakt där de bedöms vara lämpade att användas som livsmedel. Det kan även ingå slaktkroppar från vilt som nedlagts för att användas som livsmedel men ändå förklarats otjänliga utan att visa tecken på sjukdomar som kan föras över till människor eller djur. Färskfoder får även innehålla huvuden av fjäderfä.

Regelverk associerat till färskfoder skiljer sig mellan EU och övriga västvärlden. Animaliska bi-produkter tenderar att ingå i färskfoder även inom Nordamerika, men då dessa produkter inte bedöms vara lämpliga för humankonsumtion finns ingen ansvarig myndighet för reglering av färskfodermarknaden. Detta innebär att det endast finns etablerade riktlinjer som styr märkning av färskfoder, ingående ingredienser och beskrivning av hälsorisker i relation till utfodring. US food and drug administration "FDA" beskriver i sina riktlinjer att de tillåter tre typer av djurvävnad i färskfoder åt husdjur. Dessa tre typer inkluderar kött för humankonsumtion, kött från djur som dött på annat sätt än via slakt och kött som ursprungligen varit ämnat för humankonsumtion men inte längre anses lämpligt för detta syfte. Djur som dött på annat sätt än via slakt utgör en ökad risk avseende förekomst av patogena organismer då omständigheterna bakom djurets dödsfall inte alltid är klart definierade. Trots att samtliga av dessa kategorier tillåts för produktion av färskfoder rekommenderar ändå FDA att endast kött som är lämpat för humankonsumtion bör användas för produktion av färskfoder, just av den anledningen att detta foder inte utsätts för värmebehandlande åtgärder för att reducera bakteriemängden i fodret (FDA, 2004).

### **Nutritionell sammansättning**

Förespråkare för färskfoder tenderar att argumentera att metaboliska enzymer i färskfoder förbättrar den biologiska tillgängligheten och att upphettning istället förbrukar enzymerna och därmed också försämrar den nutritionella kvalitén av det intagna fodret (Johnson & Sinning, 2001). Detta argument för nutritionell överlägsenhet har dock ifrågasatts i flertalet studier då färskfoder inte tenderar att ha samma konsekventa nutritionella innehåll som övriga

---

<sup>1</sup> EUT L 54, 26.2.2011, s. 1–254, Celex 32011R0142.

<sup>2</sup> EUT L 300, 14.11.2009, s. 1–33, Celex 32009R1069.

kommersiella hundfoder och nutritionella obalanser i hundfoder i extrema fall riskerar att orsaka sjukdom hos de individer som står under denna utfodring. I en europeisk studie av Dilitzer *et al.* (2011) konstaterades obalanser avseende halterna av kalcium, fosfor, jod, zink, koppar, vitamin A och vitamin D i 57 % av de hemmagjorda färskfoderdieter som undersöktes. Detta tyder därmed på att en generell nutritionell obalans kan ses vid färskfoderutfodring men då denna studie endast inkluderade hemmagjorda dieter kan vidare slutsatser om kommersiella alternativ inte dras utifrån denna studie.

Ytterligare studier har beskrivit mer specifika obalanser i färskfoder med efterföljande sjukdom hos de hundar som utfodras med dessa foder. I den japanska studien av Kawaguchi *et al.* (1993) studerades en kull med schäfrar som utfodrades med en diet baserat på 80 % ris och 20 % kött. Denna valpkull konstaterades utveckla sekundär hyperparathyroidism vilket också benämns som nutritionell osteodystrofi till följd av en obalanserad kalcium/fosforhalt i deras foder. Viss variation tenderade dock att ses inom kullen vilket indikerar att även andra aspekter såsom genetik kan utgöra en bidragande faktor. Nutritionell osteodystrofi tenderar att uppkomma vid utfodring med en diet som innehar höga halter fosfor och låga halter av kalcium, vilket vanligen är fallet för en i princip uteslutande köttbaserad diet. Vid detta tillstånd initierar kroppen kalciumsparande mekanismer, via en minskad renal utsöndring och ett ökat skeletalt upptag, vilket på sikt kan leda till urkalkning av skelettet med en ökad risk för benskörhet och patologiska frakturer. Denna obalans har även beskrivits i studien av DeLay & Laing (2002) där nutritionell osteodystrofi rapporterats från två 6-veckors valpkullar som utfodrats med en BARF-diet från tre veckors ålder. Studien av Freeman & Michel (2001) analyserade också den nutritionella sammansättningen av 5 färskfoderdieter inklusive 2 kommersiella och 3 hemmagjorda dieter. Även i denna studie konstaterades låga halter av kalcium och fosfor i 60 % av färskfoderproverna. De kommersiella dieterna låg dock även högt i vitamin D och två av dieterna låg lågt i magnesium vilket utgör två nutritionella parametrar som kan påverka upptaget av kalcium och fosfor i fodret, vilket därmed bidrar med ytterligare en ökad risk för nutritionell osteodystrofi. Sammantaget tyder dessa studier därmed på att sammansättningen i färskfoder är något som bör bli ifrågasatt, särskilt av den anledningen att förespråkare av färskfoder tenderar att framföra färskfoders nutritionella överlägsenhet som ett av de huvudsakliga argumenten för denna typ av foder.

## **Bakteriekontamination**

Rått kött kan bidra med överföring av mikroorganismer. Bakterier från hud och fjädrar kan deponeras på köttets yta under slakteriprocessen och vidare kontamination kan ske under hela slaktprocessen från urtagning till paketering. För att minimera bakteriemängden kan kontrollåtgärder som trimning eller renskärning av kött ske vid synbara kontaminationer men icke synbara kontaminationer kan kvarstå (Lejeune & Hancock, 2001). Infektioner hos djur kan upptäckas om det orsakar makroskopiska förändringar på och i slaktkroppen eller dess organ, medan mikrobiologiska avvikelser endast kan detekteras vid provtagning. Enligt Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 854/2004 av den 29 april 2004 om fastställande av särskilda bestämmelser för genomförandet av offentlig kontroll av produkter av animaliskt ursprung avsedda att användas som livsmedel bilaga 1 kapitel 5<sup>3</sup>, anges att kött kan otjänligförklaras som livsmedel vid avvikelser i upprättade mikrobiologiska kriterier, men

---

<sup>3</sup> EUT L 139, 30.4.2004, s. 206–320, Celex 32004R0854.

även vid fekal förorening, lokala makroskopiska förändringar tydande på infektion eller allmänt utbredda förändringar såsom sepsis. Vissa av de bakterier som kan förekomma på kött bidrar till förskämning medan andra istället kan vara patogener för människor och djur. Båda dessa typer av bakterier kan därmed också vara relevanta i färskfodersammanhang.

Tabell 1. Riktvärden bakteriehalter animaliska foderråvaror enligt Statens jordbruksverks föreskrifter och allmänna råd (SJVFS 2011:40) om foder, saknr M 39, bilaga 17

	Övre gräns (antal/g foder där inte annat anges)	log	Anmärkning
Total antal anaeroba	5 x 10 <sup>6</sup>	6,7	Inte fermenterande produkter, inte torra
Koliforma 37°	5 x 10 <sup>4</sup>	4,7	”
Anaeroba	5 x 10 <sup>3</sup>	3,7	”
Salmonella	0		torra och inte torra

Statens jordbruksverk (SJVFS 2011:40, s 51) anger riktvärden avseende bakteriehalter i animaliska foderråvaror (Tabell 1). Dessa riktvärden anger en nolltolerans avseende *Salmonella* spp. och de anger att anaeroba bakteriehalter såsom *Clostridium perfringens* inte rekommenderas överstiga 5x10<sup>3</sup>. Dessa riktvärden anger även att bakteriehalter för koliformer, vilka utgör en undergrupp till *Enterobacteriaceae*, inte rekommenderas överstiga 5x10<sup>4</sup>. Dessa riktvärden ligger till grund för jämförelse med de bekräftade bakteriehalterna i den aktuella studien.

## **Enterobacteriaceae**

### **Taxonomi**

Familjen *Enterobacteriaceae* är en grupp av gramnegativa, icke sporulerande bakterier mellan 1 och 5 µm i storlek. Bakterierna är fakultativt anaeroba med undantaget för *Saccharobacter fermentans* och vissa stammar av *Yersinia* och *Erwinia*, som samtliga har förmågan att reducera nitrat till nitrit. Bakterier tillhörande familjen *Enterobacteriaceae* tenderar att sakna cytokrom C oxidas vilket kan nyttjas i diagnostiska sammanhang, det finns dock undantag såsom *Plesiomonas* spp. Bakterier tillhörande familjen *Enterobacteriaceae* är katalaspositiva med undantaget för *Shigella dysenteriae* 1 och *Xenorhabdus* spp. *Enterobacteriaceae* fermenterar även olika kolhydrater och förmågan att producera syra och gas från fermenteringen av D-glukos, är en viktig diagnostisk aspekt som vanligen används för detektion och typning av dessa bakterier (Baylis *et al.*, 2011).

### **Enterobacteriaceae som indikatororganism**

Bakterier tillhörande *Enterobacteriaceae* är vanligt förekommande bland djur och i miljön. Inom denna grupp finns både harmlösa kommensaler, som kan bidra med förskämning av livsmedel och betydelsefulla patogener med potential att orsaka gastroenterit hos både djur och människor (Baylis *et al.*, 2011). *Enterobacteriaceae* kan nyttjas som indikatororganismer i livsmedel där höga halter indikerar dålig hygien (Tortorello, 2003). Då bakterier inom denna

grupp dock tenderar att vara både av fekalt och icke-fekalt ursprung kan gruppen i mindre utsträckning nyttjas som en indikation på fekal förorening. För detta syfte används istället koliforma bakterier vilka utgör en undergrupp till *Enterobacteriaceae*. Koliforma bakterier är vanligt förekommande i gastrointestinkanalen hos däggdjur, fåglar etc och bör inte förekomma på livsmedel vid bibehållande av goda hygienrutiner. Bakterier inom denna grupp kan detekteras genom förmågan att fermentera laktos inom 24-48h vilket ger upphov till produktion av syra och gas. *Enterobacter* spp., *Escherichia coli*, *Citrobacter* spp. och *Klebsiella* spp. är samtliga laktospositiva. Bakterier såsom *Hafnia alvei* och stammar tillhörande *Buttiauxella*, *Leclercia*, *Pantoea*, *Serratia*, *Yersinia* med flera kan dock även inkluderas i koliformer trots mer varierande laktosfermentering. Ytterligare arter utöver de redan nämnda kan dock även fermentera laktos i varierade hastighet och definitionen av denna bakteriegrupp är något oklar (Baylis *et al.*, 2011). Förekomst av koliformer inklusive *E. coli* i färskfoder har bekräftats i flertalet studier (Weese *et al.*, 2005; Nilsson, 2015; Strohmeyer *et al.*, 2006) vilket inte är förvånande då koliformer utgör en vanligt förekommande kontamination av kött.

### **Patogenicitet inom Enterobacteriaceae**

Inom livsmedelssammanhang utgör *Enterobacteriaceae* en viktig grupp av bakterier där flertalet patogener inkluderas. Vissa bakterier inom *Enterobacteriaceae* är dock inte primära patogener, men har förmågan att utvecklas till patogener genom att inneha olika virulensassocierade gener på bakteriernas mobila element som transposoner, plasmider, insertionssekvenser och bakteriofager. Utöver *Salmonella* spp. som beskrivs i en separat del i detta arbete har även andra bakterier tillhörande familjen *Enterobacteriaceae* såsom *E. coli*, *Shigella dysenteriae* och *Yersinia enterocolica* fått viss uppmärksamhet i livsmedels-sammanhang (Baylis *et al.*, 2011). *Shigella* spp. kan orsaka allvarlig gastroenterit hos människor men djur utöver primater tenderar inte att drabbas av en klinisk infektion (Marks *et al.*, 2003). Denna patogen berörs därmed inte vidare då dess relevans i färskfodersammanhang är mycket låg. *Yersinia* spp. har dock konstaterats kunna infektera hundar som konsumerar kontaminerat rått fläskkött och kan även vara en humanpatogen, varför dess betydelse i färskfodersammanhang bör utforskas vidare (Fredriksson-Ahomaa *et al.*, 2001). *Escherichia coli* tillhör den normala tarmfloran hos både djur och människor men vissa serotyper associeras med gastroenterit. Flertalet patotyper av *E. coli* som associeras med gastroenterit har en uppsättning av virulensfaktorer som fås genom horisontell genöverföring och agerar för att bestämma de kliniska, patologiska och epidemiologiska sidorna av sjukdomen de ger upphov till. De olika patotyperna inkluderar enteropatogena *E. coli* (EPEC), enterotoxinogena *E. coli* (ETEC), enterohemorragiska *E. coli* (EHEC), nekrotoxinogena *E. coli* (NTEC), enteroinvasiva *E. coli* (EIEC), enteroaggregerande *E. coli* (EAEC) och adherentinvasiva *E. coli* (AIEC). Många stammar har isolerats från hundar både med och utan diarré och dess betydelse är inte fullständigt definierad (Marks *et al.*, 2011). EHEC benämns i vissa sammanhang också som verotoxinproducerande *E. coli* (VTEC) eller shiga-toxinproducerande *E. coli* (STEC). Beteckningarna shigatoxin och STEC används synonymt med verotoxin och VTEC (Van Schothorst, 2006). Patogena *E. coli* har även bekräftats förekomma i färskfoder i flertalet studier (Freeman & Michel, 2001; Nemser *et al.*, 2014; Stone *et al.*, 1993).

## **Salmonella spp.**

### **Taxonomi**

*Salmonella* spp. utgörs av gramnegativa, motila, icke sporulerande, fakultativt anaeroba bakterier som tillhör familjen *Enterobacteriaceae*. *Salmonella* spp. består av *Salmonella enterica* och *Salmonella bongoris*. *Salmonella enterica* delas i sin tur upp i 6 subspecies: *S. enterica* supsp. *enterica*, *S. enterica* subsp. *salamae*, *S. enterica* subsp. *arizonae*, *S. enterica* subsp. *diarizonae*, *S. enterica* subsp. *houtenae* och *S. enterica* subsp. *indica* (Marks *et al.*, 2011). *Salmonella* spp. är en mesofil bakterie med optimal tillväxttemperatur mellan 15-40°C vilket innebär att den växer i rumstemperatur och kan spridas via kontamination av miljö, mat/foder och vatten (Stone *et al.*, 1993). *Salmonella* spp. kan isoleras från gastrointestinalkanalen på människa och hund liksom flertalet andra däggdjur, fåglar och reptiler. Bakterien kan agera som patogen för både hund och människa men flertalet djurslag inklusive hund kan vara en bärare av bakterien, utan att visa klinisk sjukdom (Marks *et al.*, 2011).

### **Patogenicitet Salmonella spp.**

*Salmonella* spp. kan orsaka sjukdom hos hund men oftast förflyter infektionen subkliniskt (Marks *et al.*, 2011). Klinisk salmonellos förekommer huvudsakligen hos valpar och inom kennelpopulationer. De vanligaste symptomen är feber, anorexi, hemorragisk diarré eller icke blodtillblandad diarré, kräkning, viktförlust, näsflöde, bakbenspares och abort. I extrema fall kan sepsis utvecklas (Marks & Kather, 2003). Enligt Sveriges Veterinärförbunds antibiotikapolicy (2009) ska behandling vid gastroenterit orsakad av infektion med *Salmonella* spp. huvudsakligen vara understödande. Antibiotika övervägs endast vid kraftig blodig diarré, chock och sepsis. Vid behandling med antibiotika finns en risk att djuret blir bärare av bakterien över en längre tid än vad som annars skulle varit aktuellt (Gorbach, 1989; Greene, 1990; Gaskell & Bennett, 1996; Quinn *et al.*, 1997) och det finns humana studier som visar på att patogenen koloniserar gallblåsan vid kroniska salmonellainfektioner (Gonzalez-Escobedo & Gunn, 2013). Smittvägen för *Salmonella* spp. är fekal-oral och vid pågående infektion sker bakterieutsöndring via faeces (Stone *et al.*, 1993). Vid salmonellainfektion hos hund tenderar bakterien att utsöndras kontinuerligt under en veckas tid för att därefter utsöndras intermittent under ytterligare 5 veckor (Sanchez *et al.*, 2002; Marks & Kather, 2003). Det finns dock även studier som visat på betydligt kortare perioder för fekal utsöndring av *Salmonella* spp hos hund. Finley *et al.* (2007) konstaterade en fekal salmonellautsöndring som påbörjades 1-7 dagar efter intag av salmonellakontaminerat foder och sedan pågick i totalt 1-11 dagar med ett genomsnitt på 3,9 dagar, med uppehåll i utsöndringen under perioder av 1-9 dagar.

Det finns åtskilliga studier som påvisat *Salmonella* spp. i färskfoder med varierande prevalenser (Finley *et al.*, 2008; Mehlenbacher *et al.*, 2011; Nemser *et al.*, 2014; Chengappa *et al.*, 1992; Joffe & Schlesinger, 2002; Strohmeyer *et al.*, 2006; Lenz *et al.*, 2009; Weese *et al.*, 2005) och studier som konstaterat fekal utsöndring av *Salmonella* spp. efter utfodring med salmonellakontaminerat foder (Joffe & Schlesinger, 2002; Finley *et al.*, 2007; Lefebvre *et al.*, 2008). Betydelsen av infektion med *Salmonella* spp. i sjukdomssammanhang för hund har ifrågasatts men det finns studier som bekräftat kliniska symptom efter utfodring med salmonellakontaminerat rått kött inom uppfödningar av greyhounds (Morley *et al.*, 2006; Stone *et al.*, 1993). Dessa fall utgör dock en relativt unik situation med högt presterande individer i utrymmen med hög beläggning och därmed också risk för högt smittryck. Denna situation är därmed sannolikt inte helt jämförbar med ett typiskt hushåll.

I Sverige rapporteras ca 3000 fall av salmonellainfektion hos människa varje år och av dessa infektioner bedöms ca 20-30 % vara inhemska, dvs. infekterade i Sverige (2016). Human salmonellos utvecklas främst till följd av konsumering av kontaminerade matprodukter. Det förekommer dock fall som associerats med husdjurkontakt eller med hantering av naturliga foderprodukter. Färskfoder skulle kunna utgöra en potentiell källa för human salmonellos både via hanteringen av hundens färskfoder, matskålar, faeces och även via hunden själv efter utfodring (Finley *et al.*, 2006). Weese & Rousseau (2006) har visat att matskålar där det förekommit salmonellakontaminerat färskfoder förblir kontaminerade trots standardrengöring och desinfektion. Endast desinfektion med 10 % blekmedelslösning och rengöring i 85°C reducerar effektivt bakterieantalet. Detta är därmed en viktig parameter att ta hänsyn till i diskussionen om potentiell smittspridning i hushåll. Klinisk salmonellos hos människor ger mild till måttlig sjukdom vilket karakteriseras av diarré, feber och magkramper. Infektionen kan sprida sig till blod, benmärg eller meningier i hjärnan, vilket i värsta fall kan ge upphov till allvarlig och till och med dödlig sjukdom (Marks & Kather, 2003). Sato *et al.* (2000) beskriver ett fall av human salmonellos hos ett spädbarn, där infektionen med *S. virchow* konstaterats ha sitt ursprung i hushållets hundar. Patogenen eliminerades slutligen via antibiotikabehandling men denna studie konstaterar ändå allvaret relaterat till salmonellainfekterade hundar i en miljö med yngre barn (Sato *et al.*, 2000).

### **Svenska salmonella-programmet**

I Sverige finns ett unikt salmonellakontrollprogram vilket initialt godkändes via 95/50/EG: Kommissionens beslut av den 23 februari 1995 om godkännande av det handlingsprogram för den salmonellakontroll för vissa levande djur och djurprodukter som lagts fram av Sverige<sup>4</sup>. Salmonellaprogrammet möjliggör via omfattande övervakning en mycket låg prevalens av *Salmonella* spp. bland svenska djurbesättningar (SVA, 2016). Misstanke om salmonellainfektion i en livsmedelsproducerande besättning är anmälningspliktigt enligt Zoonoslagen (1999:658) saknr K 100 och vid bekräftade fall krävs bekämpning enligt Statens jordbruksverks föreskrifter (SJVFS 2004:2) om bekämpande av salmonella hos djur, saknr K 102. Inom salmonellaprogrammet finns både lagstadgade och frivilliga kontrollprogram vars målsättning är att hålla svenska livsmedel fria från *Salmonella* spp. i hela livsmedelskedjan från foder till färdigt livsmedel. Obligatorisk övervakning sker av samtliga fjäderfäbesättningar enligt Statens jordbruksverks föreskrifter (SJVFS 2007:19) om obligatorisk salmonellakontroll av fjäderfän, saknr K 104. Regelmässig övervakning sker även via provtagning vid slakt och styckning både gällande färskt kött från nöt, gris och fjäderfä enligt Livsmedelsverkets föreskrifter om offentlig kontroll av livsmedel (LIVSFS 2005:21), saknr H4. Under 2016 påvisades *Salmonella* spp. i 9 (0,2 %) av 3680 kycklingflockar som testades rutinmässigt innan slakt i Sverige. Dessutom påvisades *S. Typhimurium* i en föräldraflock av kyckling. *Salmonella* spp. påvisades även i 4 (0,6 %) av 673 flockar av värphöns och i en flock med gäss, men inte i någon flock med kalkoner eller ankor. I djurfoder med animaliskt ursprung påvisades *Salmonella* spp. i 1 (0,08 %) av 1264 prov under 2016 (SVA, 2016). Detta tyder sammantaget på att sannolikheten är mycket låg att påvisa *Salmonella* spp. i svenskt färskfoder.

---

<sup>4</sup> EGT L 53, 9.3.1995, s.31 Celex. 31995D0050.

## ***Clostridium perfringens***

### **Taxonomi**

*Clostridium perfringens* är en grampositiv, sporulerande, anaerob bakterie som förekommer som normalflora i gastrointestinkanalen men som även kan vara patogen hos såväl djur som människor. Organismen delas upp i de fem biotyperna A-E baserat på det genetiska innehållet för de fyra främsta toxinerna: alfa, beta, iota och epsilon. Utöver dessa fyra toxiner kan varje biotyp dessutom uttrycka 10 andra etablerade toxiner inklusive *C. perfringens* enterotoxin (CPE). Samtliga fem biotyper kan innehålla CPE men trots detta är den globala förekomsten för detta toxin endast ca 5 % (Marks *et al.*, 2011). Frisättningen av CPE är till viss del associerat med sporulering av bakterien och förekommer huvudsakligen vid typ A infektioner, vilket är den vanligaste förekommande infektionen på hund. CPE orsakar vävnadsskada i gastrointestinkanalen, men dess sjukdomsorsakande mekanismer är dock inte helt klarlagda (Weese *et al.*, 2001). Utöver CPE har det även fastställts att andra virulensfaktorer som beta2-toxin kan ha en betydande roll gällande utvecklingen av diarré. Beta2-toxin har associerats med nekrotisk enterit på smågrisar och typhlocolit hos häst men dess roll hos hund är betydligt mer oklar (Marks *et al.*, 2011).

### **Betydelse av *C. perfringens* inom broilerindustrin**

Sedan utsättningen av tillväxtbefrämjande antibiotika i Sverige 1986 (Grave *et al.*, 2006) och inom hela EU 2006 (Miller *et al.*, 2006), blev nekrotisk enterit orsakad av infektion med *C. perfringens* ett mer uttalat problem inom kycklingindustrin (Immenseel *et al.*, 2004). Infektionen medför såväl ekonomiska förluster som lidande för insjuknade djur. Koccidiostatika som används inom konventionell kycklingproduktion minskar förekomsten av *Eimeria* spp., vilka ger upphov till koccidios. Koccidiostatika är lagstiftningsmässigt klassat som fodertillsats, men har en antibakteriell effekt och hämmar även tillväxten av *C. perfringens* (Svensk Fågel, 2017). Förekomst av *C. perfringens* hos kyckling ger inte alltid upphov till kliniska symptom, men bakterien utsöndras via faeces vilket medför en ökad risk för kontamination av köttet i samband med slakt (Immenseel *et al.*, 2004). I USA har ännu inget uttalat förbud mot tillväxtbefrämjande antibiotika införts. En strävan finns dock inom kycklingindustrin att minimera användningen av tillväxtbefrämjande antibiotika och i undersökningen av McDonald & Wang (2011) rapporterar 42 % av kycklingproducenter att de inte använder dessa typer av preparat. I takt med den minskade användningen av tillväxtbefrämjande antibiotika i USA har dock nekrotisk enterit orsakat av infektioner med *C. perfringens*, därmed blivit ett större problem även inom denna region (M'Sadeq *et al.*, 2015).

### **Patogenicitet *C. perfringens***

Infektion med enterotoxinogena *C. perfringens* typ A har både associerats med sporadisk diarré och matförgiftning på humansidan (Marks *et al.*, 2011) liksom antibiotikaorsakad diarré tillsammans med *C. difficile* (Weese *et al.*, 2001). *Clostridium perfringens* kan orsaka sjukdom hos hund men det är inte ovanligt att bakterien påvisas hos hundar utan kliniska symptom. Vid infektion hos hund varierar symptombilden från mild diarré till akut fatal hemorragisk diarré med inflammation i den intestinala mukosan. Enterotoxinogena *C. perfringens* typ A kan orsaka både akuta och kroniska gastrointestinala rubbningar på hund, med en påverkan både på tunn- och grovtarm (Marks *et al.*, 2011). Enligt Sveriges Veterinärförbunds antibiotikapolicy (2009) är infektioner med *C. perfringens* hos hund vanligen självläkande och kräver ingen behandling utöver understödande. Ett ökat fiberinnehåll kan dock bidra med ett lägre pH vilket i sin tur kan hämma sporuleringen som associerats med frisättningen av CPE. I de fall antibiotika-

behandling anses nödvändigt bör dock preparat som penicillin eller ampicillin/amoxicillin väljas i första hand. Betydelsen av *C. perfringens* i sjukdoms-sammanhang är inte fullständigt klarlagt, men det finns studier som påvisat bakterien i färskfoder (Weese *et al.*, 2005; Stone *et al.*, 1993) och studier som påvisat ett samband mellan förekomst av *C. perfringens* och CPE i faeces med gastrointestinala symptom hos hund (Weese *et al.*, 2001; Stone *et al.*, 1993). Om *C. perfringens* utgjorde den primära orsaken till diarrén i studierna av Weese *et al.* (2001) och Stone *et al.* (1993) gick dock inte att fastställa.

## **Termotoleranta *Campylobacter***

### ***Taxonomi***

*Campylobacter* spp. är gramnegativa, microaerofila, böjda och motila stavar där majoriteten av species och subspecies bedöms vara apatogena. De species som oftast orsakar sjukdom hos människa är *Campylobacter coli* och *Campylobacter jejuni*, vilka benämns som termotoleranta tillsammans med *Campylobacter upsaliensis* och *Campylobacter lari* då dessa species kan växa lika bra i 42° C som 37° C. Andra vanligt förekommande species inom detta genus påvisar mer variabel eller avsaknad av termotolerans (Forsythe, 2010). Förmågan till termotolerans inom detta genus upptäcktes initialt av King (1962) vilken initierade att arten bytte namn från *Vibrio* spp. till *Campylobacter* spp. på 1960-talet. Termotoleranta *Campylobacter* kan påvisas i livsmedel, hos djur och i miljön och är en orsak till gastroenterit hos människor men dess betydelse hos hund är inte helt klarlagt (Marks *et al.*, 2011).

### ***Epidemiologi***

Kyckling och kycklingprodukter är de vanligaste förekommande smittkällorna för human campylobacterios. Såväl fjäderfä som många andra djurslag kan vara bärare av *Campylobacter* spp. och deras kött kan kontamineras i samband med slakt och vidare förädling. Under 2016 påvisades termotoleranta *Campylobacter* i 15.4% av samtliga kycklingflockar som provtogs i samband med slakt i Sverige (SVA, 2016). Den högsta incidensen av human campylobacterios i Sverige rapporterades under 2016 vilket indikerar att *Campylobacter* är ett allvarligt problem inom svensk kycklingproduktion. *Campylobacter* är inte endast ett problem i Sverige utan även globalt, där det utgör den vanligaste rapporterade orsaken till bakteriell gastroenterit hos människor inom EU. Antalet rapporterade humanfall av campylobacterios är även säsongsbundet i tempererade klimat (EFSA & ECDC, 2016). En säsongsvariation har även setts hos hundar i den norska studien av Sandberg *et al.* (2002) som dock konstaterade en ökad fekal utsöndring av *Campylobacter* under våren. Samma smittkällor kan förekomma hos människor och djur vilket innebär att dessa grupper kan ha en gemensam exponering, men potentiellt även kan smitta varandra (Marks *et al.*, 2011).

### ***Patogenicitet Campylobacter spp.***

De vanligaste symtomen vid gastroenterit orsakad av *Campylobacter* spp. hos människa är diarré, feber och magkramper (Butzler, 2004), medan mer invasiv sjukdom och sepsis kan utvecklas hos individer som påvisar immunosuppression (Wolfs *et al.*, 2001). Hundägande eller kontakt med hundar utgör en potentiell smittorisk för infektion med *Campylobacter* spp. Främst drabbas yngre barn och spädbarn vilket beskrivits i studier genomförda i USA (Fullerton *et al.*, 2007), Australien (Tentake & Stafford, 2011) respektive Sverige (Carrique-Mas *et al.*, 2005). Wolfs *et al.* (2001) beskriver också ett fall av neonatal sepsis orsakad av *C. jejuni* som spridits från hushållets hundvalp. Utöver de två redan nämnda *C. jejuni* och *C. coli* som är vanliga

orsaker till human campylobacterios, har även *C. upsaliensis* bekräftats orsaka infektion hos människor. Flertalet species inom *Campylobacter* spp. kan isoleras hos hund men *C. upsaliensis* tenderar att isoleras relativt frekvent hos individer både med och utan symptom på gastrointestinal sjukdom (Engvall *et al.*, 2003). Betydelsen av *Campylobacter* spp. hos hund är dock omdiskuterad. Det finns studier som påvisat *Campylobacter* spp. i färskfoder (Bojanic *et al.*, 2016). Det finns även studier som påvisat en ökad frekvens av fekal utsöndring av *Campylobacter* spp. i samband med gastrointestinala symptom hos individer yngre än 1 år (Burnens *et al.*, 1992), men även inom hela hundpopulationer oavsett ålder (Chaban *et al.*, 2010). Generellt anses dock unga individer och individer med nedsatt immunförsvar vara associerade med en ökad risk för sjukdom (Marks *et al.*, 2011). Symptom hos hund varierar från milda symptom på lös avföring till vattnig diarré eller blodig mukoid diarré, anorexi, intermittenta kräkningar och feber (Marks *et al.*, 2011). Enligt Sveriges Veterinärförbunds antibiotikapolicy (2009) anses behandling vid campylobacterorsakad gastroenterit endast vara aktuellt vid kraftig allmänpåverkan och risk för sepsis. Förstahandspreparat utgörs av makrolider som erytromycin.

## MATERIAL OCH METODER

### Färskfoder

Trettio produkter av färskfoder köptes i butik i området kring Uppsala, Borlänge, Falun samt Örebro under perioden mars-maj (14st) och augusti (16st) 2017. Analyserna genomfördes under perioden april-maj på de produkter som inköptes under mars-maj och under augusti-september på de produkter som inköptes under augusti 2017. Analyserna genomfördes på Sveriges Lantbruksuniversitet (SLU) av veterinärstudenten Lovisa Staaf Hästö. Proverna utgjordes både av BARF och konventionellt färskfoder. Samtliga färskfoderprodukter innehöll kött och slaktprodukter av fjäderfän antingen i form av kyckling, kalkon eller and. Enstaka produkter innehöll dessutom gris och lax. Kött eller slaktprodukter från idisslare ingick inte i något av proverna. Produkterna hade enligt märkningen sitt ursprung i Sverige, Norge, Finland eller Storbritannien och de märken som inkluderades i studien var Sund Hundmat, Vom og Hundemat, Emmzo, Pure Natural och Mush. På förpackningarna specificerades bäst före datum medan produktionsdatum inte framgick. Produkterna köptes frysta och vägde vid inköp ca 500-800g. Efter inköp skedde omedelbar transport till frys där proverna förvarades fram tills upptining i kylskåp ca 2 dygn innan analyserna påbörjades. För samtliga färskfoderprover genomfördes bakterieodling, *Enterobacteriaceae* och *Clostridium perfringens* analyserades kvantitativt medan *Salmonella* spp. och *Campylobacter* spp. analyserades kvalitativt. Avseende *Enterobacteriaceae* fastställdes via t-test om de skillnader som sågs mellan produkter av olika ursprung påvisade statistisk signifikans.

### *Enterobacteriaceae*

För kvantifiering av *Enterobacteriaceae* användes metoden NMKL 144, där 25 g färskfoder stomacherades i 225ml buffrat peptonvatten under 1 minut varterefter 1ml av färskfoderblandningen pipetterades i en tiostegs spädningsserie 1–4. Från respektive spädning djupspreddes 1ml i 10-15ml Violet-Rött Galla Glukos-agar (VRGG) i en petriskål, lösningen blandades noggrant med agarn och lämnades därefter att stelna. Ytterligare ett skikt med ca 5ml VRGG gjöts ovanpå det första lagret och även detta lämnades för att stelna. Samtliga plattor inkuberades i 37°C i 24h. *Enterobacteriaceae* växte med skära/röda kolonier och minst fem av dessa kolonier renströks på en blodagarplatta som inkuberades i 37°C i 24h. Misstänka kolonier konfirmerades med oxidastest och de bakterier som var oxidasnegativa subtypades med MALDI-TOF.

### *Salmonella* spp.

För påvisande av *Salmonella* spp. användes metoden NMKL 187, där 25 g färskfoder stomacherades i 225ml buffrat peptonvatten under 1 minut. Denna preanrikning inkuberades i 37°C i 18h. 100µl av preanrikningen applicerades därefter på tre punkter på Selektiva Modified Semisolid Rappaport Vassiliadis (MSRV) för selektiv anrikning. Plattan inkuberades aerobt 41.5°C i 24h. Om inga misstänkta Salmonellakolonier sågs på MSRV-agarn efter 24h förlängdes inkubationen ytterligare 24h. Vid misstänkt växt av *Salmonella* spp. sågs en gråaktig svärmsningszon på MSRV agarn inom 1-2 dygn. Vid misstänkt växt på MSRV gjordes en renodling från kolonins opaka zon till Xylos Lysin-Desoxycholate-agar (XLD) och Brilljant-Grön-agar (BG). Plattorna inkuberades aerobt i 37°C i 24h och om inga misstänkta salmonellakolonier kunde påvisas inkuberades plattorna ytterligare 24h. Vid misstänkt växt av *Salmonella* spp. på XLD sågs röda/rosa kolonier med svart centrum och på BG sågs röda/rosa

kolonier med omgivande rödfärgad agar. Vid misstänkt växt renodlades upp till fem misstänkta salmonellakolonier på blå- eller blodagar vilka inkuberades aerobt i 37°C i 24h. Misstänkta kolonier av *Salmonella* spp. verifierades med Maldi-TOF samt skickades till SVA för verifiering och typning.

### ***Clostridium perfringens***

För kvantifiering av *Clostridium perfringens* användes metoden NMKL 95, där 25 g färskfoder stomacherades i 225ml buffrat peptonvatten under 1 minut varefter 1ml av färskfoderblandningen pipetterades i en tiostegs spädningsserie 1–4. Från varje spädning överfördes 1 ml till ett stelnat lager av ca 5ml Tryptose Sulphite Cycloserin-agar (TSC) vilket sedan täcktes med ytterligare ca 15ml TSC och blandades noggrant. Agarn lämnades att stelna. Samtliga plattor inkuberades anaerobt i 24h i 37°C. *Clostridium perfringens* växte fram med svarta kolonier med en opak zon och vid positiv växt renodlades minst fem kolonier på blodagar vilka därefter inkuberades anaerobt i 37°C i 24h. Misstänka kolonier med typisk dubbelhemolys verifierades med Maldi-TOF.

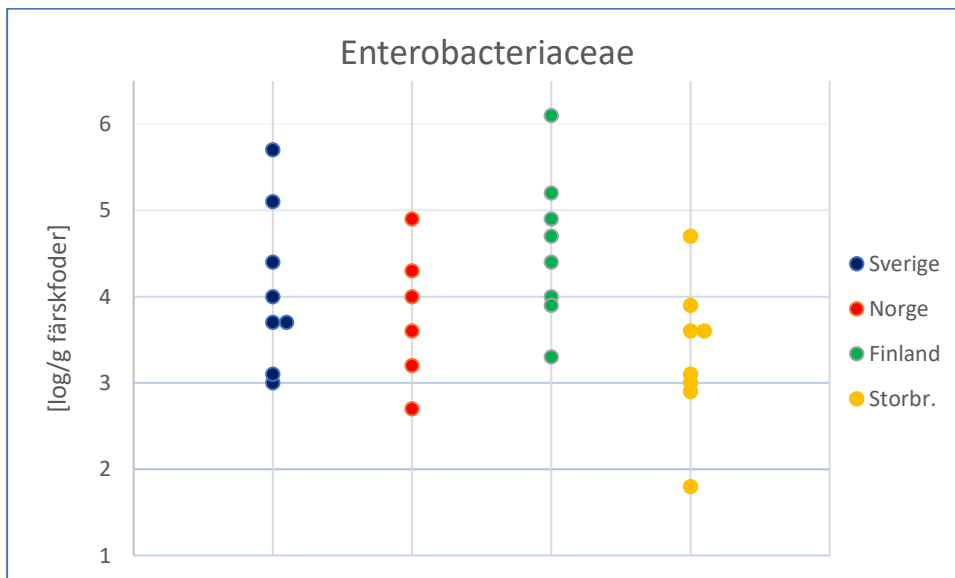
### **Termotoleranta *Campylobacter***

För påvisande av termotoleranta *Campylobacter* användes metoden ISO 10272-1 (2017), där 25g färskfoder stomacherades i 100ml Prestonbuljong under 1 minut. Prestonbuljong innehåller polymyxin B, rifampicin, trimetoprim och cycloheximidin vilket verkar antibakteriellt mot gramnegativa bakterier inklusive *Proteus* spp. och är även antifungalt, för att möjliggöra selektering specifikt för *Campylobacter* spp. Homogenatet med prestonbuljong och färskfoder inkuberades i 41.5°C i 24h. Efter 24h inkubering togs 20 µl av anrikningen och överfördes till en modified Charcoal Cephoperazone Desoxycholat-agar (mCCDA-agar) vilket inkuberades i 41.5°C i 48h i microaerofil miljö med hjälp av anaerobklockor med Campygen. Grå eller vita kolonier med typisk metallglans misstänktes vara *Campylobacter*, dessa undersöktes vidare via mikroskopering i fasmikroskop. Kolonimaterial slammades upp i en droppe NaCl på ett objektglas, vilket täcktes med ett täckglas för att därefter studeras i mikroskop. De prover som utgjordes av små, böjda, motila stavar renströks på blodagar, inkuberades mikroaerofilt i 24h och konfirmerades och typades med Maldi-TOF.

## RESULTAT

### *Enterobacteriaceae*

*Enterobacteriaceae* påvisades i samtliga 30 prover. Mängden *Enterobacteriaceae* varierade mellan log 1,8 – 6,1/g färskfoder med ett medelvärde på log 4,0/g färskfoder. De åtta proverna med Sverige som ursprungsland påvisade en variation mellan log 3,0 – log 5,7/g färskfoder och ett medelvärde på log 4,1/g färskfoder. De sex proverna med Norge som ursprungsland påvisade en variation mellan log 2,7 – log 4,9/g färskfoder med ett medelvärde på log 3,8/g färskfoder. De åtta proverna med Finland som ursprungsland påvisade en variation mellan log 3,3 – 6,1/g färskfoder med ett medelvärde på log 4,6/g färskfoder. De åtta proverna med Storbritannien som ursprungsland varierade mellan log 1,8 – log 4,7/g färskfoder med ett medelvärde på log 3,3/g färskfoder (Figur 1). De skillnader som sågs mellan prover av olika ursprung påvisade inte statistisk signifikans. Via subtypning med Maldi-TOF bekräftades de 30 färskfoderproverna innehålla totalt 9 olika bakteriespecies tillhörande *Enterobacteriaceae*. *Enterobacter* spp., *Escherichia coli*, *Citrobacter* spp. och *Klebsiella* spp. tillhör koliformer och utgjorde 47 % av påvisade bakteriespecies. *Buttiauxella* spp., *Pantoea* spp. och *Serratia* spp. kan trots varierande laktosfermenterande förmåga eventuellt inkluderas i koliformer och utgjorde 40 % av påvisade bakteriespecies. Övriga bakteriespecies (13 %) utgjordes av *Raoultella* spp. och *Proteus* spp.



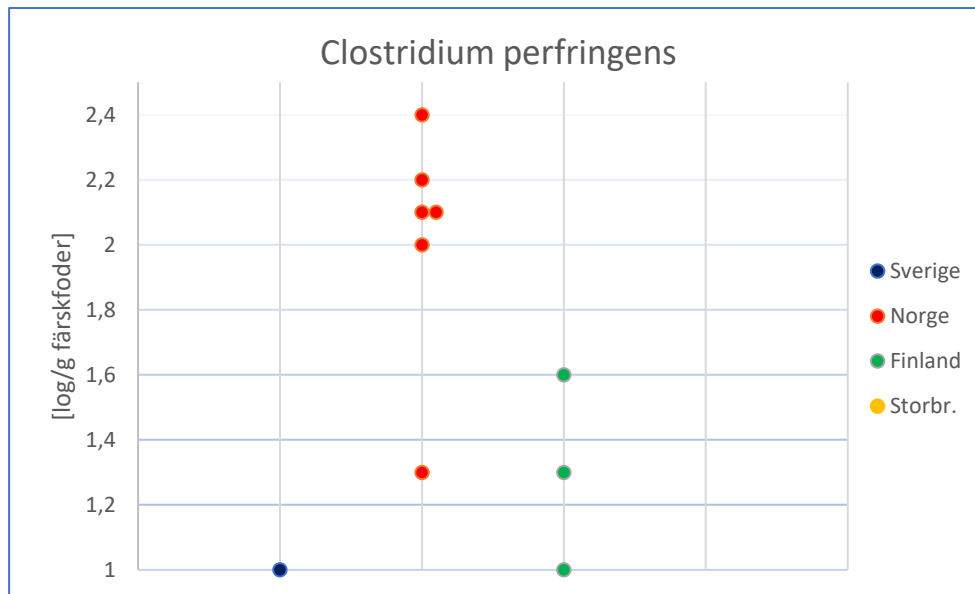
Figur 1: Halter *Enterobacteriaceae* uttryckt i log/g färskfoder påvisade i studiens 30 färskfoderprover.

### *Salmonella* spp.

*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium påvisades i ett prov från Sverige. Detta prov inköptes under sensommaren och innehöll kalkon som proteinkälla. I övriga prov kunde inte *Salmonella* påvisas.

## ***Clostridium perfringens***

*Clostridium perfringens* påvisades i 10 (33,3 %) av 30 prov där mängden *C. perfringens* varierade mellan log 1,0 – log 2,4/g färskfoder med ett medelvärde på log 1,7/g färskfoder. Av de tio proverna där *C. perfringens* kunde kvantifieras var sex prover av norskt ursprung, ett av svenskt ursprung och tre av finskt ursprung (Figur 2). Samtliga svenska och norska prov hade kyckling som proteinkälla, medan ett av de finska proverna hade kalkon som proteinkälla och de övriga två finska proverna hade en kombination av kyckling, kalkon och gris som proteinkällor.



Figur 2: Mängden *C. perfringens* uttryckt i log/g färskfoder i de 10 färskfoderproverna där *C. perfringens* kunde påvisas i studien.

## **Termotoleranta *Campylobacter***

Termotoleranta *Campylobacter* påvisades i två prover. I det ena provet, som inköptes under våren, påvisades *Campylobacter coli*. Detta prov hade brittiskt ursprung och kalkon som proteinkälla. I det andra provet, som inköptes under sensommaren, påvisades *Campylobacter jejuni*. Detta prov hade norskt ursprung och kyckling som proteinkälla. I det norska provet kunde även *C. perfringens* kvantifieras. I övriga prov kunde inte *Campylobacter* spp. påvisas trots växt på ytterligare 16 mCCDA plattor. Vid mikroskopering avfärdades de initiala misstankarna då proverna huvudsakligen utgjordes av raka stavar.

## DISKUSSION

### *Enterobacteriaceae*

*Enterobacteriaceae* påvisades i samtliga prov i studien. Antalet bakterier i varje enskilt prov varierade mellan log 1,8 – 6,1/g färskfoder med ett medelvärde på log 4,0/g färskfoder. Variation förekom mellan prover av olika ursprung där prover producerade i Storbritannien påvisade lägst medelvärde på log 3,3/g färskfoder. Detta kan jämföras med prover producerade i Norge med medelvärdet log 3,8/g färskfoder, Sverige log 4,1/g färskfoder och Finland log 4,6/g färskfoder. Ingen statistisk signifikant skillnad kunde ses mellan prover av olika ursprung i studien. För att fastställa om de skillnader som ses mellan dessa fyra länder, grundar sig i något mer är tillfälligheter, krävs att ytterligare prover inkluderas för analys i studien.

Statens jordbruksverk (SJVFS 2011:40, s 51) har etablerat riktvärden avseende bakteriehalter i animaliska foderråvaror (Tabell 1). Utifrån dessa riktvärden kan den aktuella studiens bakteriehalter av *Enterobacteriaceae*, jämföras med de angivna riktvärdena för koliformer vilka utgör en undergrupp till *Enterobacteriaceae*. I den aktuella studien överstiger sex (20 %) av 30 prover riktvärdet på log 4,7 avseende koliforma bakterier och ytterligare två prover befinner sig precis på gränsvärdet. Något högre halter än rekommenderade gränsvärden kan eventuellt accepteras just av den anledningen att denna studie analyserat *Enterobacteriaceae* och inte specifikt koliforma bakterier. I studien typades dock bakterier tillhörande *Enterobacteriaceae* via Maldi-TOF vilket därmed fastställde andelen koliformer av de påvisade bakteriearterna av *Enterobacteriaceae* i studien. Bakterier klassiskt tillhörande koliformer med laktosfermenterande förmåga (*Enterobacter* spp., *Escherichia coli*, *Citrobacter* spp. och *Klebsiella* spp.) utgjorde 47 % av påvisade bakteriespecies. Bakterier med variabel laktosfermenteringsförmåga som därmed eventuellt kan tillhöra koliformer (Baylis *et al.*, 2011) utgjorde 40 % (*Buttiauxella* spp., *Pantoea* spp. och *Serratia* spp.) och resterande bakterie-species (*Raoultella* spp. och *Proteus* spp.) utgjorde 13 %. Med den bredare definitionen av koliformer där även bakterier med variabel laktosfermentering kan inkluderas, upptar koliformer 87 % av de påvisade bakteriehalterna av *Enterobacteriaceae* i studien. Detta innebär därmed att de sex prover vars bakteriehalter avseende *Enterobacteriaceae* överstiger det avgivna riktvärdet på log 4,7 för koliformer (SJVFS 2011:40) inte bör anses vara optimala. Detta trots att inte specifikt koliformer analyserats men då koliformer ändå utgör en betydande del av det analyserade *Enterobacteriaceae*. Om bakteriehalterna för *Enterobacteriaceae* överstiger angivna riktvärden för koliformer innebär detta att den hygieniska kvalitén i dessa färskfoder kan ifrågasättas, vilket särskilt kan vara aktuellt för proverna med de högsta halterna av *Enterobacteriaceae*, log 5,7 och log 6,1/g färskfoder.

Studiens bakteriehalter kan även jämföras med etablerade gränsvärden för livsmedel ämnat för humankonsumtion, där *E. coli* inte ska överstiga  $5 \times 10^2$  cfu/g (log 2,7/g) i malet kött enligt Kommissionens förordning (EG) nr 2073/2005 av den 15 novemberber 2005 om mikrobiologiska kriterier för livsmedel<sup>5</sup>. Dessa gränsvärden utgår från färskt malet kött men enligt Georgsson *et al.* (2006) har nedfrysning av kött inte en bakteriereducerande effekt på koliformer. I den aktuella studien överstiger 28 av 30 färskfoderprover gränsvärdena för human konsumtion. En aspekt att överväga är även att malet kött ämnat för humankonsumtion generellt sett även tillagas, vilket reducerar bakterieantalet betydligt. Detta är därmed en betydande skillnad jämfört med färskfoder som är ämnat att konsumeras otillagat. Studien analyserade

---

<sup>5</sup> EUT L338, 22.12.2005, p. 1–26, Celex 32005R2073.

dock bakterier tillhörande *Enterobacteriaceae* vilket som tidigare nämnts är en bredare grupp jämfört med koliformer, varför det inte dras vidare slutsatser utifrån detta.

Att *Enterobacteriaceae* påvisades i samtliga färskfoderprover var väntat. Strohmeier *et al.* (2006) påvisade bakteriekontamination i 99 % av färskfoderprover och gramnegativa bakterier i 82,1 % av proverna, trots att ingen anrikning använts under odlingsprocessen. En större del av dessa gramnegativer utgörs sannolikt av bakterier tillhörande familjen *Enterobacteriaceae*. Gramnegativa bakterier kunde i samma studie av Strohmeier *et al.* (2006) istället inte påvisas i något av proverna i kontrollen bestående av konventionellt hundfoder när anrikning inte använts, vilket inte var förvånande då detta foder genomgått bakteriereducerande värmebehandling. I en annan svensk studie av Hellgren (2018) isolerades även *Enterobacteriaceae* i samtliga 30 inkluderade färskfoderprover. Till skillnad från den aktuella studien inkluderade Hellgrens studie färskfoder innehållande slaktprodukter från idisslare med ett medvetet exkluderande av produkter från fjäderfän. Bakteriehalter avseende *Enterobacteriaceae* varierade mellan log 1,6 – 6,4/g färskfoder med ett medelvärde på log 3,8/g färskfoder. Resultatet från studien av Hellgren är därmed i princip identiskt med den aktuella studien. Hypotesen var dock att det skulle vara en större skillnad mellan dessa studier då slakt av idisslare anses vara en slaktform med kontrollerad manuell hantering av varje slaktkropp. Detta kan jämföras med fjäderfäslakt som är mer automatiserad med en större mängd vatten i slaktkedjan, vilket är gynnsamt för bakterietillväxt (Rouger *et al.*, 2017). Det finns dock ytterligare parametrar utöver ingående proteinkällor i färskfoder som kan påverka bakteriehalterna av *Enterobacteriaceae* i färskfoder. I Hellgrens (2018) studie analyserades prover med samma fyra ursprungsländer som denna studien, dock med en dominans av svenska prover (46,7 %) och med tre (10 %) prover med svenskt/tyskt ursprung. Om dessa skillnader avseende ursprung har haft en inverkan på de faktiska bakteriehalterna, går dock endast att spekulera kring.

Det finns även studier som specifikt undersökt förekomsten av koliforma bakterier i färskfoder. Weese *et al.* (2005) undersökte förekomsten av koliforma bakterier i 25 färskfoderprodukter varav 24 var frysta och ett prov var frystorkat. Studien bekräftade förekomst av koliformer i samtliga prover med halter som varierade mellan  $3.5 \times 10^3$  –  $9.4 \times 10^6$  CFU/g vilket motsvarar log 3,5/g – log 7,0/g. Det frystorkade provet påvisade dock lägst bakteriehalter avseende koliformer. Denna nivå av bakteriekontamination är något högre jämfört med den aktuella studien som påvisades halter mellan log 1,8 – log 6,7/g färskfoder men då den aktuella studien undersökt halter av *Enterobacteriaceae* och Weese *et al.* (2005) specifikt undersökt koliforma bakterier borde halterna av koliformer vara betydligt lägre. De högre bakteriehalterna som ses i Weese *et al.* (2005) studie skulle kunna relateras till det faktum att det i Nordamerika inte existerar reglerande lagstiftning gällande produktionen av färskfoder (Finley *et al.*, 2006) utan endast riktlinjer etablerade av US food and drug administration (2004). Detta skiljer sig dock betydligt från lagstiftningen inom EU där EG nr 1069/2009 anger att kött som inte är lämpat för humankonsumtion, endast får användas för produktion av färskfoder om det bedömts otjänligt av kommersiella skäl eller annat skäl utan att visa tecken på sjukdomar som kan föras över till människor eller djur (EG nr 1069/2009). Denna skillnad bör uppmärksammas av den anledningen att studier genomförda i Nordamerika respektive Europa med fokus att studera bakteriehalter i färskfoder, kan ha betydligt olika utgångspunkter avseende vilket typ av färskfoder som kan ingå i studierna, vilket därmed också bör påverka tolkningen av resultaten.

*Escherichia coli* som ingår i familjen *Enterobacteriaceae* utgjorde en av de totalt 9 olika bakteriespecies som påvisades i den aktuella studien. I en svensk studie av Nilsson (2015) påvisades *E. coli* i samtliga färskfoderprover medan en annan studie påvisat en prevalens avseende *E. coli* på 60 % med en betydligt lägre prevalens av *E. coli* i konventionellt hundfoder med 20,8 % vilket var väntat då dessa foder genomgått bakteriereducerande värmebehandling (Strohmeier *et al.*, 2006). *E. coli* utgör inte endast en indikation för fekal kontamination utan kan även agera som potentiell patogen. Freeman (2001) påvisade *E. coli* O157:H7, vilket är en känd humanpatogen, i ett (20 %) av 5 färskfoderprover. Med endast ett bekräftat positivt prov går det dock ej att dra vidare slutsatser utifrån denna studie. Nemser *et al.* (2014) påvisade STEC i 8 (4,1 %) av 196 färskfoderprover, medan kontrollen som utgjordes av torrfoder samtliga var negativa avseende den nämnda bakterien. Stone *et al.* (1993) undersökte också bakterieförekomst i faeces hos 41 hundar med diarré vilka utfodrades med färskfoder. I denna studie isolerades VTEC i ett faecesprov medan verotoxin påvisades i 10 faecesprover från de 41 hundarna med diarré. VTEC kunde dock inte påvisas i något av de korrelerande färskfoderproverna vilket kan indikera att även andra smittkällor för VTEC kan förekomma. Det huvudsakliga syftet med analysen av *Enterobacteriaceae* i denna studie var att nyttja denna grupp som indikator på hygienisk kvalitet av färskfoder, men den patogena potentialen inom detta genus både via patogena *E. coli* och andra potentiella patogener måste beaktas. Dessa bakterier kan vara associerade med gastrointestinal sjukdom både hos hunden som konsumerar fodret och för de människor som hanterar fodret, hanterar hunden och i ett senare skede också hundens faeces (Baylis *et al.*, 2011).

### **Salmonella spp.**

*Salmonella* Typhimurium påvisades i ett (3,3 %) av 30 färskfoderprov i studien. Det positiva provet avseende *Salmonella* var producerat i Sverige vilket var oväntat då målet med det svenska salmonellaprogrammet är att hålla svenska livsmedel salmonellafria. Det faktum att *Salmonella* spp. dock inte påvisades i ytterligare något färskfoderprov var inte förvånande då även importerade färskfoder genomgår strikt kontroll innan de tillåts på den svenska marknaden (SVA, 2016). Proteinkällan i provet där *Salmonella* påvisades var kalkon men det går inte med säkerhet att fastställa att det faktiskt var kalkon som var smittkällan. Färskfodret kan ha blivit kontaminerat någon gång under produktionsprocessen då *Salmonella* spp. kan vara svår att eliminera från produktionslokaler. En annan anledning att ifrågasätta att kalkon var källan till *Salmonella* är att bakterien inte påvisades i något prov från kalkoner i Sverige under 2016. Däremot påvisades *Salmonella* i nio (0,2 %) av 3680 kycklingflockar som testades inför slakt, i fyra (0,6 %) av 673 flockar av värphöns och i en flock med gäss. *Salmonella* påvisades endast i en av 1264 (0,08 %) batcher av djurfoder med animaliskt ursprung i Sverige och om *Salmonella* påvisas i ett djurfoder skall det tas bort från marknaden för att förhindra vidare smittspridning (SVA, 2016). I statistik avseende *Salmonella* utfärdad av EFSA & ECDC (2016) konstaterades en prevalens inom kycklingflockar avseende *Salmonella* spp. på 2,2 % under 2015 för de 22 länder inom Europa som rapporterat sina data och har aktiva kontrollprogram mot *Salmonella*. Sveriges prevalens var enligt samma rapport 0,38 % under 2015 men den uppdaterade prevalensen för 2016 var enligt SVA (2016) 0,2 %. Enligt EFSA och ECDC (2016) var prevalensen i Norge 0,02 %, Finland 0,05 % och Storbritannien 1,5 % för 2015. Därmed kan konstateras att inte bara Sverige utan även Norge och Finland har en mycket bra position och kontroll avseende *Salmonella* spp. Även Storbritannien har färre andel kycklingar koloniserade med *Salmonella* spp. jämfört med unionens genomsnitt.

I den svenska studien av Hellgren (2018) undersöktes också förekomsten av *Salmonella* spp. i färskfoder innehållande slaktprodukter från idisslare med ett medvetet exkluderande av produkter från fjäderfän. I denna studie konstaterades en prevalens av *Salmonella* spp. på 10 % där de tre positiva proverna utgjordes av två prover med tyskt ursprung och ett prov med svenskt ursprung. Att Hellgren (2018) påvisade en högre andel prover med *Salmonella* spp. jämfört med denna studien var dock inte väntat då *Salmonella* spp. historiskt sett huvudsakligen är etablerad inom fjäderfäindustrin (SVA, 2016). Att färskfoder innehållande fjäderfä skulle vara associerat med en ökad risk för salmonellakontamination har beskrivits av Finley *et al.* (2008) som konstaterade att fjäderfä ingick som proteinkälla i salmonellapositiva prover i 67 % av fallen, med en generell prevalens avseende *Salmonella* spp. på 21 % i studien. En orsak till att *Salmonella* spp. påvisades i flera prov i Hellgrens (2018) studie skulle kunna bero på att två av de positiva proverna hade tyskt ursprung och inget tyskt prov inkluderades i denna studie. Tyskland är associerat med en hög prevalens av *Salmonella* spp. både hos kyckling på 2,0 % och nötkreatur på 4,2 %, vilket kan jämföras med motsvarande prevalenser för Sverige på 0,4 % respektive 0,08 %, Norge 0,02 % respektive 0 %, Finland 0,05 % respektive 0,09 % och Storbritannien på 1,5 % hos fjäderfä, men tyvärr utan tillgänglig statistik avseende nöt (EFSA & ECDC, 2016).

Det finns flertalet studier genomförda med fokus att undersöka förekomsten av *Salmonella* spp. i färskfoder med varierande andel salmonellapositiva prover, 14 % (Mehlenbacher *et al.*, 2011), 7,7 % (Nemser *et al.*, 2014), 44,6 % (Chengappa *et al.*, 1992) och 80 % (Joffe & Schlesinger, 2002). Specifikt *S. enterica* har påvisats med en prevalens på 7,1 % (Strohmeier *et al.*, 2006) och 14 % (Lenz *et al.*, 2009) och *S. Typhimurium* 20 % (Weese *et al.*, 2005). Den aktuella studien påvisar en betydligt lägre prevalens vilket var förväntat då samtliga av ovan citerade studier är genomförda i Nordamerika som inte har samma utarbetade lagstiftning liknande den inom EU avseende reglering av produktionen av färskfoder (Finley *et al.*, 2006; EG nr 1069/2009). Som tidigare nämnts är också denna studie unik avseende det faktum att samtliga länder som ingår i studien har en låg prevalens avseende *Salmonella* spp. (EFSA & ECDC, 2016) och studien är genomförd på prover inköpta inom den svenska marknaden som står under kontroll av det svenska salmonellaprogrammet (SVA, 2016).

Det finns studier som undersökt om utfodring med salmonellakontaminerat färskfoder kan ge upphov till fekal utsöndring av *Salmonella* spp. Joffe & Schlesinger (2002) konstaterade 8 bekräftade positiva prover avseende *Salmonella* spp. i en studie av 10 hemmagjorda färskfoderdieter, där 3 av de 10 individer som utfodrades med dessa dieter konstaterades utsöndra *Salmonella* spp. via faeces. Av de tre bekräftade fallen i studien av Joffe & Schlesinger (2002) påvisade endast en individ samma serovar av *Salmonella* spp. i sin faeces som det som påvisats i fodret till denna hund. Det andra bekräftade fallet påvisade en annan serovar jämfört med det i fodret och för det tredje fallet påvisades *Salmonella* spp. i hundens faeces men kunde inte påvisas i hundens foder. De 10 hundar som utgjorde kontroll i studien var dock samtliga negativa avseende *Salmonella* spp. i faeces. Detta bekräftar att fekal salmonellautsöndring kan vara associerat med utfodring av salmonellakontaminerat färskfoder. Detta styrks även av Finley *et al.* (2007) som visade att 7 (44 %) av 16 hundar i studien utsöndrade salmonella 1-7 dagar efter konsumtion av salmonellakontaminerat färskfoder. Fem av sju positiva faecesprover innehöll även samma serotyper som i det kontaminerade fodret, men ingen individ utvecklade klinisk salmonellos (Finley *et al.*, 2007). Lefebvre *et al.* (2008) studerade också en grupp med

hundar avseende fekal utsöndring av *Salmonella* spp. där 40 (20 %) av hundarna utfodrades med färskfoder. Hundarna som ingick i denna studie var terapihundar varför frågan om salmonellautsöndring blev ännu mer aktuell då dessa hundar vistades i sjukhusmiljöer. I studien konstaterades att *Salmonella* spp. utsöndrades hos 61 % av hundarna utfodrade med färskfoder jämfört med 8 % av hundarna utfodrade med en konventionell diet. De hundar som hade bekräftad förekomst av *Salmonella* spp. i faeces hade i högre utsträckning även haft diarré under de senaste två månaderna varför klinisk salmonellos därmed ej kunde uteslutas på dessa individer.

Relevansen av *Salmonella* spp. hos hund är omdiskuterat. Endast ett fåtal studier genomförda inom greyhounduppfödningar har påvisat ett samband mellan utfodring av salmonella-kontaminerat färskfoder och klinisk salmonellos. Morley *et al.* (2006) beskriver att infektioner med *Salmonella* spp. utgör en ständig problematik inom flertalet greyhounduppfödningar då dessa hundar i princip genomgående utfodras med rått kött. I Morley *et al.* (2006) studie isolerades *S. enterica* från rått kött och mixat foder som givits till hundar inom anläggningen och vid provtagning av hundarnas faeces påvisades *S. enterica* i 57 (93 %) av 61 prover. Endast en individ hade avföring av normal konsistens och infektioner med *Salmonella* spp. förekom hos hundar inom samtliga åldersgrupper. Samtliga individer med symptom var valpar vilket indikerar att immunitet förvärvas genom frekvent exponering av smittämnet. Stone *et al.* (1993) har även de associerat salmonellakontaminerat foder och salmonellaorsakad enterit inom en uppfödning med greyhounds. Totalt 41 faecesprover från hundar med diarré analyserades tillsammans med analys av det färskfoder som dessa hundar hade blivit givna. Av dessa 41 prover bekräftades 31 isolat av *Salmonella* spp. förekomma i faeces och 30 isolat i foder. Kontroller insamlades från 35 symptomfria hundar och av dessa bekräftades 4 positiva prov avseende *Salmonella* spp. 16 av de 31 påvisade isolaten av *Salmonella* spp. i hundfaeces kunde även påvisas i det foder hundarna hade blivit utfodrade med. *Salmonella* Typhimurium förekom i 67 % av fallen. Denna studie talar därför för ett tydligt samband med salmonellaförekomst i färskfoder och klinisk salmonellos. Båda studierna genomförda hos greyhounduppfödningar utgör dock relativt unika situationer, där många högt presterande hundar vistas inom ett begränsat område vilket kan etablera ett högt smittryck. Detta går förmodligen inte att relatera till ett klassiskt hushåll med enstaka hundar utsatta för normala prestationskrav. Det faktum att *Salmonella* spp. dock kan agera som potentiell patogen måste beaktas särskilt hos unga individer eller individer med nedsatt immunförsvar.

### ***Clostridium perfringens***

*Clostridium perfringens* påvisades i 10 (33,3 %) av 30 prover, varav sex prover var från Norge, ett från Sverige och tre från Finland. Detektionsnivån för analysen, dvs den minsta mängd som kunde kvantifieras var log 1,0/g färskfoder. Den största mängden som beräknades i ett prov var log 2,4/g färskfoder. Medelvärde för de 10 proven var log 1,7/g färskfoder. *Clostridium perfringens* kunde inte påvisas i något prov från Storbritannien, medan i prov från övriga ursprungsländer kunde *Clostridium perfringens* kvantifieras i minst ett prov. Det är anmärkningsvärt att *C. perfringens* kunde kvantifieras i samtliga prov av norskt ursprung, vilket indikerar nedsatt hygienisk kvalitet av dessa prover. Det är dock även möjligt att de norska fjäderfäbesättningar vars slaktprodukter ingått i dessa färskfoderprodukter har haft en större problematik gällande infektioner med *C. perfringens* vilket bidragit till en ökad risk för kontamination av slaktprodukter i samband med slakt. En aspekt att ta hänsyn till är att det inte

är osannolikt att ytterligare prover innehåller *C. perfringens*, men med halter precis under detekterbara nivåer, det vill säga  $\log <1/g$  färskfoder.

I studien av Hellgren (2018) kunde *C. perfringens* kvantifieras i åtta (27 %) av 30 färskfoderprov innehållande slaktprodukter från idisslare. Den något högre förekomsten i den aktuella studien skulle kunna förklaras av att *C. perfringens* är vanligt förekommande i tarmfloran hos fjäderfä (Immenseel *et al.*, 2004). Dessutom är fjäderfäslakt associerat med en högre risk för fekal kontamination jämfört med slakt av nötkreatur, framför allt på grund av en större risk för tarmrupturer i samband med en mer automatiserad slaktform i hög hastighet. Fjäderfäslakt är också associerat med en mer uttalad användning av vatten vilket troligen bidrar till en ökad överlevnad av bakterier (Rouger *et al.*, 2017). I en studie av Miwa *et al.* (1998) har förekomsten av *C. perfringens* i köttprodukter av nöt, fläsk respektive kyckling studerats. Studien visade då CPE positiva *C. perfringens* i 12 % av proverna innehållande kycklingkött, 2 % av proverna innehållande nötkött och i 0 % av proverna innehållande fläskkött. *Clostridium perfringens* påvisades i 84 % av proverna innehållande kycklingkött, 26 % av proverna innehållande nötkött och i 22 % av proverna innehållande fläskkött. Miwa *et al.* (1998) studie stärker därmed resultatet från den aktuella studien det vill säga att köttprodukter från kyckling är associerade med en ökad risk för kontamination av *C. perfringens* jämfört med såväl fläsk- som nötkött

Enligt riktvärden avseende bakteriehalter i animaliska foderråvaror i tabell 1 (SJVFS 2011:40, s 51) rekommenderas att anaerobier inte förekommer i halter högre än  $5 \times 10^3/g$  ( $\log 3,7/g$ ). Det högsta värdet som påvisades i denna studie var  $\log 2,4/g$  färskfoder, vilket innebär att samtliga prover i denna studie anses vara godtagbara avseende halterna av *C. perfringens*. Det är möjligt att halterna av *C. perfringens* var låga redan innan infrysning men det kan även vara så att bakterien har reducerats på grund av att den är känslig för kyla. Studien av Trakulchanh & Kraft (1977) har undersökt hur vegetativa celler av *C. perfringens* påverkas av nedfrysning. Råa köttprodukter inokulerades med vegetativa celler och sporer av *C. perfringens*, placerades i frysförvaring i  $-29^\circ\text{C}$  och antalet viabla celler reducerades med 90 % under 42 dagar. Enligt studien av Strong & Scott (1964) är det framförallt sporer av *C. perfringens* som överlever nedfrysning i  $-18^\circ\text{C}$  men även dessa reduceras markant och endast ca 16-58% av organismen överlever. Vegetativa celler kvarstår i mycket låga halter efter frysningsprocessen. Skulle detta vara fallet i den aktuella studien skulle förekomsten av *C. perfringens* även kunna vara associerad med viss patogenicitet då sporulering till viss del anses vara associerat med frisättningen av CPE (Weese *et al.*, 2001). Det skulle även kunna vara så att de prover i studien som bekräftades innehålla clostridier inte nödvändigtvis var de prover som innan frysning innehöll de högsta halterna av vegetativa celler.

Det finns ytterligare studier som konstaterat förekomst av *C. perfringens* i färskfoder. Weese *et al.* (2005) påvisade *C. perfringens* i 20 % av totalt 25 färskfoderprover där 24 av proverna var frysta och ett prov var frystorkat. Sporulerande bakterier påvisades i 16 % av proverna på direktkultur och i 100 % av proverna på berikat medium, vilket utgör viktiga fynd då sporulering till viss del anses vara associerat med viss patogenicitet. I studien av Stone *et al.* (1993) undersöktes förekomsten av *C. perfringens* i faeces hos 41 hundar med diarré inom en greyhounduppfödning, tillsammans med en analys av dessa hundars färskfoderdieter. I 41 färskfoderprov påvisades 9 isolat av *C. perfringens* och hos 27 hundar med diarré påvisades 29 isolat av bakterien. Endast ett isolat påvisades hos kontrollgruppen bestående av 25 hundar utan kliniska symptom. CPE påvisades i totalt 5 faecesprover från djur med diarré och i 4 av dessa

prover förekom också *C. perfringens*. I studien av Stone *et al.* (1993) konstateras dock ingen tydlig korrelation mellan foder, bakterieförekomst i faeces och symptom, då inget av de påvisade isolaten i foder kunde matchas med isolaten påvisade i respektive hunds faeces. Stone *et al.* (1993) påvisade även *Salmonella* spp. i 16 av de 27 faecesproverna där *C. perfringens* påvisats vilket kan tyda på att *C. perfringens* skulle kunna utgöra ett bifynd i detta sammanhang och att en störd mikroflora är fördelaktigt för tillväxten av *C. perfringens*. Att det utgör en bidragande faktor i sammanhanget kan dock inte uteslutas. Förekomsten av *C. perfringens* i studierna av Weese *et al.* (2005) och Stone *et al.* (1993) var 20 % respektive 22 % vilket inte skiljer mycket från den aktuella studiens prevalens på 33,3 %. En orsak till den något högre prevalensen i den aktuella studien skulle kunna vara att tillväxtbefrämjande antibiotika är förbjudet inom Sverige sedan 1986 (Grave *et al.*, 2006), tätt följd av övriga Norden och sedan hela EU 2006 (Miller *et al.*, 2006) vilket bidragit med att *C. perfringens* blivit ett större problem inom kycklingproduktionen i Europa (McDonald & Wang, 2011). Detta kan innebära att en större mängd *C. perfringens* kan förväntas att ses i tarmen hos kyckling vilket ger en ökad risk för kontamination av kycklingköttet vid slakt. Studierna av Stone *et al.* (1993) och Weese *et al.* (2005) är båda genomförda i Nordamerika där ett uttalat förbud mot tillväxtbefrämjande antibiotika ännu inte är etablerat och situationen för *C. perfringens* därmed skulle kunna förväntas vara något bättre (McDonald & Wang, 2011).

Den patogena potentialen hos *C. perfringens* får inte heller förbises vilket bekräftats av studien av Weese *et al.* (2001) där det konstaterats ett samband mellan utsöndring av *C. perfringens* i feaces och gastrointestinala symptom. Bakterien påvisades hos 75 (86 %) av 87 hundar med diarré inkluderade i studien och CPE påvisades hos 24 (28 %) av dessa 87 hundar. Inom kontrollen bestående av 55 hundar med normal avföring påvisades *C. perfringens* hos 39 individer (71 %) och CPE påvisades hos 3 individer (5 %). Ett tydligt samband kan därmed ses i denna studie avseende förekomst av *C. perfringens* i feaces och gastrointestinala symptom. Om *C. perfringens* dock utgör den primära orsaken till dessa symptom kan inte med säkerhet fastställas.

### **Termotoleranta *Campylobacter***

*Campylobacter* spp. påvisades i två (7 %) av 30 färskfoderprover där de två isolat som påvisades typades till *C. jejuni* och *C. coli*. Att *Campylobacter* spp. påvisades i denna studie var väntat då *Campylobacter* spp. är vanligt förekommande hos fjäderfä (Butzler, 2004). I studien av Hellgren (2018) undersöktes också förekomsten av *Campylobacter* spp. i färskfoder men färskfoderproverna i den studien innehöll istället produkter från idisslare med ett medvetet exkluderande av produkter från fjäderfä. I Hellgrens (2018) studie påvisades *Campylobacter* spp. i ett (3 %) av 30 färskfoderprover. Med utgångspunkt i att denna studie inkluderar produkter av fjäderfä och Hellgrens (2018) studie medvetet ej inkluderat denna proteinkälla hade det dock förväntats att se en betydligt större skillnad mellan de båda studierna avseende andel prover med *Campylobacter* spp. Bojanic *et al.* (2016) har dock i deras studie konstaterat att färskfoder innehållande fjäderfä påvisar en 8 ggr högre risk att vara kontaminerat med *Campylobacter* spp. och en 14ggr högre risk att vara kontaminerat med *C. jejuni*, jämfört med färskfoder innehållande andra proteinkällor.

Generellt förväntades en högre prevalens avseende *Campylobacter* spp. än 7 % då bakterien är vanligt förekommande i Sverige och i ännu högre grad inom övriga EU. Enligt rapporten utfärdad av EFSA och ECDC (2016) påvisades *Campylobacter* spp. i 11,6% av kycklingflockar

testade vid slakt i Sverige under 2015. Motsvarande siffra för Finland var 3,8 % och Storbritannien 69,9 %. I Norge var prevalensen 4,4 % men denna siffra representerar inte provtagning vid slakt utan på gårdsnivå. År 2016 ökade andelen kycklingflockar med *Campylobacter* spp. i Sverige till 15,4 % (SVA, 2016) vilket indikerar att *Campylobacter* spp. är vanligt förekommande inom kycklingindustrin. Utifrån dessa siffror borde färskfoder från Storbritannien påvisa högst förekomst av *Campylobacter* spp. och studien visade också att ett av de positiva proverna hade Storbritannien som ursprungsland. Det andra positiva färskfoderprovet kom dock från Norge som påvisar en relativt låg prevalens av *Campylobacter* spp. Den generellt låga prevalensen i den aktuella studien kan bero på att färskfoderprodukterna inkluderade i studien har sitt ursprung i kycklingproduktioner med låg prevalens avseende *Campylobacter* spp. Den låga prevalensen kan dock även vara relaterat till att *Campylobacter* spp. är mycket känslig för kyla och frysning. Enligt Georgsson *et al.* (2006) reduceras halterna av *Campylobacter* spp. med ca log 1 omedelbart vid nedfrysning och totalt med log 0,7-2,9 efter frysförvaring under 31 dagar för att därefter förbli relativt stabilt fram tills 220 dagar. Förvaring i kylskåp har inte samma bakteriereducerande effekt där halterna förblev relativt stabila under förvaring i 7 dagar. Temperaturen vid upptiningen av dessa nedfrusna produkter konstaterades också vara relevant där man sett lägre halter av *Campylobacter* spp. hos produkter tinade i 7°C jämfört med i 22°C. Argumentet för känslighet för frysning hos *Campylobacter* spp. har framförts i flertalet färskfoderstudier där *Campylobacter* spp. inte detekterats i något prov och slutsatsen har då dragits att frysprocessen sannolikt haft en betydande bakteriereducerande effekt (Weese *et al.*, 2005; Strohmeyer *et al.*, 2006). Detta kan tyda på att de två positiva proverna i denna studie sannolikt haft mycket höga halter av *Campylobacter* spp. initialt innan frysningsprocessen påbörjades, för att kunna överleva i frysförvaring. Förekomsten av *Campylobacter* spp. är högst hos kyckling under sommarperioden (EFSA & ECDC, 2016) varför det även hade förväntats fler bekräftat positiva prov avseende *Campylobacter* spp. på produkter inköpta under augusti jämfört med de inköpta under våren. Produktionsdatum framgick dock inte på produkterna, vilket innebär att det inte kunde fastställas om dessa produkter var producerade månaderna innan inköp eller betydligt tidigare.

Det finns studier som påvisat en betydligt högre prevalens av *Campylobacter* spp. i färskfoder jämfört med den aktuella studiens prevalens på 7 %. Bojanic *et al.* (2016) påvisade *Campylobacter* spp. i 28 % av 50 färskfoderprover varav 12 av dessa var frysta med en fördelning av *C. jejuni* i 22 % av proverna, *C. lari* i 6 % av proverna och *C. coli* i 6 % av proverna. Den betydligt högre andelen i Bojanic *et al.* (2016) studie beror sannolikt på att endast 24 % av färskfoderproverna var frysta och resterande 76 % inte blivit utsatta för samma bakteriereduktion som frysning bidrar med. I denna studie definierades dock aldrig fördelningen avseende *Campylobacter* spp. beroende på om produkter varit i fryst tillstånd eller inte, varför dessa resultat är svårtolkade. I samma studie provtogs utöver färskfoder även 90 hundar inkomna till djursjukhus för rutinåtgärder och sex av dessa individer påvisade gastrointestinala symptom. Andelen hundar med *Campylobacter* spp. i faeces var 36 %. Hundarna i studien som hade utfodrats med rått kött eller husmanskost påvisade en 12 ggr högre risk att vara en bärare av *C. upsaliensis* jämfört med hundar utfodrade med torrfoder. Bojanic *et al.* (2016) studie visar därmed att utfodring med färskfoder kan utgöra en riskfaktor för fekal utsöndring av *Campylobacter* spp. men ett samband med klinisk campylobacterios hos hundarna i studien kunde inte påvisas. I en finsk studie av Okkola *et al.* (2015) studerades även där om utfodring med färskfoder kunde påverka den fekala utsöndringen av *Campylobacter* spp. Innan utfodring var 13 av 33 hundar bärare av *C. upsaliensis* och post utfodring var fortsatt sex av dessa individer bärare av *C. upsaliensis*, fyra individer hade tillkommit som bärare av

*C. upsaliensis* och två avseende *C. jejuni*. De två hundarna som var bärare av *C. jejuni* hade inga tecken på gastroenterit innan försöket påbörjades och de bar på samma isolat vilket sannolikt indikerar en gemensam smittkälla, dock utan att en statistiskt signifikant korrelation kunde konstateras (Okkola *et al.*, 2015). Dessa studier indikerar sammantaget därmed att fekal utsöndring av *Campylobacter* spp. oftare påvisas hos hundar utfodrade med färskfoder. Då *Campylobacter* spp. förekommer hos hundar med och utan gastrointestinala symptom är dess betydelse dock omdiskuterad. En schweizisk studie av Burnens *et al.* (1992) konstaterade ett samband mellan fekal utsöndring av *Campylobacter* spp. och symptom på gastroenterit hos hundar yngre än 1 år. I den studien påvisades *Campylobacter* spp. hos 44 % av hundarna med symptom jämfört med 21 % hos individer utan symptom. Liknande resultat konstaterades av Chaban *et al.* (2010) som påvisade *Campylobacter* spp. hos 58 % av hundar utan gastrointestinala symptom medan motsvarande andel för hundar med diarré var 97 %, dock oavsett ålder på hundarna i studien. Att *Campylobacter* spp. skulle vara ett bifynd i dessa sammanhang kan inte uteslutas men dess patogena egenskaper och risk för spridning till djurägare måste beaktas.

## KONKLUSION

Samtliga bakteriespecies som analyserats i denna studie, *Enterobacteriaceae*, *C. perfringens*, *Campylobacter* spp. och *Salmonella* spp. kunde påvisas men förekomsten i färskfoderproverna varierade. De bakteriespecies som påvisats i denna studie behöver inte vara sjukdomsorsakande hos hund men patogen potential finns inom samtliga av de nämnda bakteriespecies. Dessa bakterier kan dock vara humanpatogena varför hantering av färskfoder, liksom i ett senare skede även hantering av hundens faeces, kan utgöra riskfaktorer för infektion hos hundägare. Hundar som utfodras med färskfoder kan koloniserars med potentiella patogener, utsöndra dem via faeces och därmed utgöra en osynlig smittkälla i den närliggande miljön med potentialen att smitta andra hundar och människor. Detta är en riskfaktor som samtliga hundägare som väljer att utfodra sina hundar med färskfoder bör vara medvetna om.

## REFERENSER

- Barza, M., Gorbach, S.L. & DeVincent, J. (2002). The need to improve antimicrobial use in agriculture: ecological and human health consequences. *Clinical Infectious Diseases*, 34: 71–78.
- Baylis, C., Uyttendaele, M., Joosten, H. & Davies, A. (2011). *The Enterobacteriaceae and Their Significance to the Food Industry*. Bryssel: International Life Science institute.
- Billinghamurst I. (1993). *Feeding the adult dog. Give your dog a bone*. Alexandria, Australia: Bridge Printery.
- Billinghamurst, I. (2001). *The BARF diet: raw feeding for dogs and cats using evolutionary principles*. Mundaring, Australia: Warrigal Publishing.
- Bojanić, K., Midwinter, A. C., Marshall, J. C., Rogers, L. E., Biggs, P. J. & Acke, E. (2017). Isolation of *Campylobacter* spp. from Client-Owned Dogs and Cats, and Retail Raw Meat Pet Food in the Manawatu, New Zealand. *Zoonoses and Public Health*, 64(6): 438-449.
- Burnens, A. P., Angéloz-Wick, B. & Nicolet, J. (1992). Comparison of *Campylobacter* carriage rates in diarrheic and healthy pet animals. *Zoonoses and Public Health*, 39(1-10): 175-180.
- Butzler, J. P. (2004). *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. *Clinical Microbiology and Infection*, 10(10): 868-876.
- Carrique-Mas, J., Andersson, Y., Hjertqvist, M., Svensson, Å., Torner, A. & Giesecke, J. (2005). Risk factors for domestic sporadic campylobacteriosis among young children in Sweden. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 37(2): 101-110.
- Chaban, B., Ngeleka, M. & Hill, J. E. (2010). Detection and quantification of 14 *Campylobacter* species in pet dogs reveals an increase in species richness in feces of diarrheic animals. *BMC Microbiology*, 10(1): 1-7.
- Chengappa, M. M., Staats, J., Oberst, R. D., Gabbert, N. H. & McVey, S. (1993). Prevalence of *Salmonella* in raw meat used in diets of racing greyhounds. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 5(3): 372-377.
- Delay, J. & Laing, J. (2002). Nutritional osteodystrophy in puppies fed a BARF diet. *AHL Newsletter*, 6(2): 23.
- Dillitzer, N., Becker, N. & Kienzle, E. (2011). Intake of minerals, trace elements and vitamins in bone and raw food rations in adult dogs. *British Journal of Nutrition*, 106(S1): 53-56.
- Engvall, E. O., Brändström, B., Andersson, L., Båverud, V., Trowald-Wigh, G. & Englund, L. (2003). Isolation and identification of thermophilic *Campylobacter* species in faecal samples from Swedish dogs. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 35(10): 713-718.
- 95/50/EG: Kommissionens beslut av den 23 februari 1995 om godkännande av det handlingsprogram för den salmonellakontroll för vissa levande djur och djurprodukter som lagts fram av Sverige.
- Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 854/2004 av den 29 april 2004 om fastställande av särskilda bestämmelser för genomförandet av offentlig kontroll av produkter av animaliskt ursprung avsedda att användas som livsmedel.
- Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 1069/2009 av den 21 oktober 2009 om hälsobestämmelser för animaliska biprodukter och därav framställda produkter som inte är avsedda att användas som livsmedel och om upphävande av förordning (EG) nr 1774/2002 (förordning om animaliska biprodukter).
- European Food Safety Authority “EFSA” and European Centre for Disease Prevention and Control “ECDC” (2016). The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2015. *European Food Safety Authority Journal* 14(12): 1-231.

- Food and Drug Administration “FDA” (2004). Guidance for industrie - Manufacture and labeling of raw meat foods for companion and captive noncompanion carnivores and omnivores. <https://www.fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/GuidanceComplianceEnforcement/GuidanceforIndustry/UCM052662.pdf>. [2017-09-05]
- Finley, R., Reid-Smith, R. & Weese, J. S. (2006). Human health implications of Salmonella-contaminated natural pet treats and raw pet food. *Clinical infectious Diseases: an Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 42(5): 686–91.
- Finley, R., Ribble, C., Aramini, J., Vandermeer, M., Popa, M., Litman, M. & Reid-Smith, R. (2007). The risk of salmonellae shedding by dogs fed Salmonella-contaminated commercial raw food diets. *The Canadian Veterinary Journal*, 48(1): 69-75.
- Finley, R., Reid-Smith, R., Ribble, C., Popa, M., Vandermeer, M. & Aramini, J. (2008). The occurrence and antimicrobial susceptibility of Salmonellae isolated from commercially available canine raw food diets in three Canadian cities. *Zoonoses and Public Health*, 55(8-10): 462-469.
- Forsythe, S. J. (2010). *The Microbiology of Safe Food*. 2. ed. Oxford: Wiley-Blackwell.
- Fredriksson-Ahomaa, M., Korte, T. & Korkeala, H. (2001). Transmission of Yersinia enterocolitica 4/O: 3 to pets via contaminated pork. *Letters in Applied Microbiology*, 32(6): 375-378.
- Freeman, L. M. & Michel, K. E. (2001). Evaluation of raw food diets for dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 218(5): 705-709.
- Fullerton, K. E., Ingram, L. A., Jones, T. F., Anderson, B. J., McCarthy, P. V., Hurd, S., Shiferaw, B., Vugia, D., Haubert, N., Hayes, T., Wedel, S., Scallan, E., Henao, O. & Angulo, F.J. (2007). Sporadic Campylobacter infection in infants: a population-based surveillance case-control study. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 26(1): 19-24.
- Gaskell, R.M. & Bennett, M. (1996). *Feline and Canine Infectious Diseases*. Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- Georgsson, F., Porkelsson, Á. E., Geirsdóttir, M., Reiersen, J., & Stern, N. J. (2006). The influence of freezing and duration of storage on Campylobacter and indicator bacteria in broiler carcasses. *Food Microbiology*, 23(7): 677-683.
- Gonzalez-Escobedo, G. & Gunn, J. S. (2013). Gallbladder epithelium as a niche for chronic Salmonella carriage. *Infection and Immunity*, 81(8), 2920-2930
- Gorbach, S.L. (1989). *Gastrointestinal Disease*. Philadelphia: W.B. Saunders Company.
- Grave, K., Jensen, V. F., Odensvik, K., Wierup, M. & Bangen, M. (2006). Usage of veterinary therapeutic antimicrobials in Denmark, Norway and Sweden following termination of antimicrobial growth promoter use. *Preventive Veterinary Medicine*, 75(1): 123-132.
- Greene, C.E. (1990). *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. Philadelphia: W.B. Saunders Company.
- Hellgren, J. (2018). *Förekomst av specifika bakterier i färskfoder till hund. En undersökning av färskfoder innehållande kött och slaktprodukter från idisslare tillgängligt på den svenska marknaden*. Sveriges lantbruksuniversitet. Veterinärprogrammet (Examensarbete 2018:30).
- Immerseel, F. V., Buck, J. D., Pasmans, F., Huyghebaert, G., Haesebrouck, F. & Ducatelle, R. (2004). Clostridium perfringens in poultry: an emerging threat for animal and public health. *Avian Pathology*, 33(6): 537-549.
- Joffe, D. J. & Schlesinger, D. P. (2002). Preliminary assessment of the risk of Salmonella infection in dogs fed raw chicken diets. *The Canadian Veterinary Journal*, 43(6): 441-442.
- Johnson, W. & Sinning, C. (2001). Mr. Johnson and Dr. Sinning respond: Letter to the editor. *Journal of American Veterinary Medicine Association*, 219: 434.

- Kawaguchi, K., Braga III, I. S., Takahashi, A., Ochiai, K. & Itakura, C. (1993). Nutritional secondary hyperparathyroidism occurring in a strain of German shepherd puppies. *Japanese Journal of Veterinary Research*, 41(2-4): 89-96.
- King, E.O. (1962) Human infections with *Vibrio fetus* and a closely related *Vibrio*. *Journal of Infectious Diseases*, 101: 119-128.
- Kommissionens förordning (EU) nr 142/2011 om genomförande av Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 1069/2009 om hälsobestämmelser för animaliska biprodukter och därav framställda produkter som inte är avsedda att användas som livsmedel och om genomförande av rådets direktiv 97/78/EG vad gäller vissa prover och produkter som enligt det direktivet är undantagna från veterinärkontroller vid gränsen.
- Kommissionens förordning (EG) nr 2073/2005 av den 15 novemberber 2005 om mikrobiologiska kriterier för livsmedel.
- Lefebvre, S. L., Reid-Smith, R., Boerlin, P. & Weese, J. S. (2008). Evaluation of the risks of shedding *Salmonellae* and other potential pathogens by therapy dogs fed raw diets in Ontario and Alberta. *Zoonoses and Public Health*, 55(8-10): 470-480.
- LeJeune, J. T. & Hancock, D. D. (2001). Public health concerns associated with feeding raw meat diets to dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 219(9): 1222-1225.
- Lenz, J., Joffe, D., Kauffman, M., Zhang, Y. & LeJeune, J. (2009). Perceptions, practices, and consequences associated with foodborne pathogens and the feeding of raw meat to dogs. *The Canadian Veterinary Journal*, 50(6): 637-643.
- Livsmedelsverkets föreskrifter (LIVSFS 2005:21) om offentlig kontroll av livsmedel, saknr H4.
- MacDonald, J. M. & Wang, S. L. (2011). Foregoing sub-therapeutic antibiotics: the impact on broiler grow-out operations. *Applied Economic Perspectives and Policy*, 33(1): 79-98.
- Marks, S. L. & Kather, E. J. (2003). Bacterial-associated diarrhea in the dog: a critical appraisal. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 33(5): 1029-1060.
- Marks, S. L., Rankin, S. C., Byrne, B. A. & Weese, J. S. (2011). Enteropathogenic bacteria in dogs and cats: diagnosis, epidemiology, treatment, and control. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25(6): 1195-1208.
- Mehlenbacher, S., Churchill, J., Olsen, K. E. & Bender, J. B. (2012). Availability, brands, labelling and *Salmonella* contamination of raw pet food in the Minneapolis/St. Paul area. *Zoonoses and Public Health*, 59(7): 513-520.
- Miller, G. Y., McNamara, P. E. & Singer, R. S. (2006). Stakeholder position paper: Economist's perspectives on antibiotic use in animals. *Preventive Veterinary Medicine*, 73(2): 163-168.
- Miwa, N., Nishina, T., Kubo, S., Atsumi, M. & Honda, H. (1998). Amount of enterotoxigenic *Clostridium perfringens* in meat detected by nested PCR. *International Journal of Food Microbiology*, 42(3): 195-200.
- Morgan, S. K., Willis, S. & Shepherd, M. L. (2017). Survey of owner motivations and veterinary input of owners feeding diets containing raw animal products. *PeerJ*, 5: 1-16.
- Morley, P. S., Strohmeier, R. A., Tankson, J. D., Hyatt, D. R., Dargatz, D. A. & Fedorka-Cray, P. J. (2006). Evaluation of the association between feeding raw meat and *Salmonella enterica* infections at a Greyhound breeding facility. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 228(10): 1524-1532.
- M'Sadeq, S. A., Wu, S., Swick, R. A. & Choct, M. (2015). Towards the control of necrotic enteritis in broiler chickens with in-feed antibiotics phasing-out worldwide. *Animal Nutrition*, 1(1): 1-11.

- Nemser, S. M., Doran, T., Grabenstein, M., McConnell, T., McGrath, T., Pamboukian, R., Y., Smith, A. C., Achen, M., Danzeisen, G., Kim, S., Liu, Y., Robeson, S., Rosario, G., McWilliams Wilson, K. & Reimschuessell, R. (2014). Investigation of *Listeria*, *Salmonella*, and toxigenic *Escherichia coli* in various pet foods. *Foodborne Pathogens and Disease*, 11(9): 706-709.
- Nilsson, O. (2015). Hygiene quality and presence of ESBL-producing *Escherichia coli* in raw food diets for dogs. *Infection Ecology & Epidemiology*, 5: 1-4.
- Olkkola, S., Kovanen, S., Roine, J., Hänninen, M. L., Hielm-Björkman, A. & Kivistö, R. (2015). Population genetics and antimicrobial susceptibility of canine *Campylobacter* isolates collected before and after a raw feeding experiment. *Plos One*, 10(7): 1-15.
- Osimani, A., Aquilanti, L., Pasquini, M. & Clementi, F. (2017). Prevalence and risk factors for thermotolerant species of *Campylobacter* in poultry meat at retail in Europe. *Poultry Science*, 96(9): 3382-3391.
- Quinn, P.J., Donnelly, W.J.C., Carter, M.E., Markey, B.K.J., Torgerson, P.R. & Breathnach, R.M.S. (1997). *Microbial and Parasitic Diseases of the Dog and Cat*. London: W.B. Saunders Company Ltd.
- Rouger, A., Tresse, O. & Zagorec, M. (2017). Bacterial contaminants of poultry meat: sources, species, and dynamics. *Microorganisms*, 5(3): 50-66.
- Sanchez, S., Hofacre, C. L., Lee, M. D., Maurer, J. J. & Doyle, M. P. (2002). Animal sources of salmonellosis in humans. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 221(4): 492-497.
- Sandberg, M., Bergsjø, B., Hofshagen, M., Skjerve, E. & Kruse, H. (2002). Risk factors for *Campylobacter* infection in Norwegian cats and dogs. *Preventive Veterinary Medicine*, 55(4): 241-253.
- Sato, Y., Mori, T., Koyama, T. & Nagase, H. (2000). *Salmonella virchow* infection in an infant transmitted by household dogs. *Journal of Veterinary Medical Science*, 62(7): 767-769.
- Statens jordbruksverks föreskrifter (SJVFS 2004:2) om bekämpande av salmonella hos djur, saknr K 102.
- Statens jordbruksverks föreskrifter (SJVFS 2007:19) om obligatorisk salmonellakontroll av fjäderfän, saknr K 104.
- Statens jordbruksverks föreskrifter och allmänna råd (SJVFS 2011:40) om foder, saknr M 39.
- Statens Veterinärmedicinska anstalt "SVA" (2016). *Surveillance of infectious diseases in animals and humans in Sweden 2016*. Uppsala (rapportserie 45).
- Stone, G. G., Chengappa, M. M., Oberst, R. D., Gabbert, N. H., McVey, S., Hennessy, K. J., Muenzenberger, M. & Staats, J. (1993). Application of polymerase chain reaction for the correlation of *Salmonella* serovars recovered from greyhound feces with their diet. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 5(3): 378-385.
- Strohmeier, R. A., Morley, P. S., Hyatt, D. R., Dargatz, D. A., Scorza, A. V. & Lappin, M. R. (2006). Evaluation of bacterial and protozoal contamination of commercially available raw meat diets for dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 228(4): 537-542.
- Strong, D. H. & Scott, L. G. (1964). Response of *Clostridium perfringens* spores and vegetative cells to temperature variation. *Applied Microbiology*, 12(3): 273-276.
- Svensk Fågel (2017). *Koccidios- och Clostridiosprogrammet*. <https://svenskfaegel.se/program/koccidios-och-clostridiosprogrammet/>. [2017-09-05].
- Sveriges veterinärförbund (2009). *Antibiotikapolicy för hund- och kattsjukdom*. [http://www.sva.se/globalassets/redesign2011/pdf/antibiotika/antibiotikapolicy\\_2009.pdf](http://www.sva.se/globalassets/redesign2011/pdf/antibiotika/antibiotikapolicy_2009.pdf) [2017-09-05].
- Tenkate, T. D. & Stafford, R. J. (2001). Risk factors for *Campylobacter* infection in infants and young children: a matched case-control study. *Epidemiology & Infection*, 127(3): 399-404.

- Tortorello, M. L. (2003). Indicator organisms for safety and quality—uses and methods for detection: minireview. *Journal of AOAC International*, 86(6): 1208-1217.
- Trakulchang, S.P. & Kraft, A.A., (1977). Survival of *Clostridium perfringens* in refrigerated and frozen meat and poultry items. *Journal of Food Science*, 42: 518–521.
- Van Schothorst, M. (2006). *Microorganisms in Foods 6: Microbial Ecology of Food Commodities*. 2. ed. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers.
- Weese, J. S., Staempfli, H. R., Prescott, J. F., Kruth, S. A., Greenwood, S. J. & Weese, H. E. (2001). The roles of *Clostridium difficile* and enterotoxigenic *Clostridium perfringens* in diarrhea in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 15(4): 374-378.
- Weese, J. S., Rousseau, J. & Arroyo, L. (2005). Bacteriological evaluation of commercial canine and feline raw diets. *Canine Veterinary Journal*, 46(6): 513-6.
- Weese, J. S. & Rousseau, J. (2006). Survival of *Salmonella* Copenhagen in food bowls following contamination with experimentally inoculated raw meat: Effects of time, cleaning, and disinfection. *The Canadian Veterinary Journal*, 47(9): 887-889.
- Wolfs, T. F., Duim, B., Geelen, S. P., Rigter, A., Thomson-Carter, F., Fler, A. & Wagenaar, J. A. (2001). Neonatal sepsis by *Campylobacter jejuni*: genetically proven transmission from a household puppy. *Clinical Infectious Diseases*, 32(5): 97-99.
- Zoonoslagen (1999:658), saknr K 100.