



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

**Fakulteten för veterinärmedicin
och husdjursvetenskap**
Institutionen för Kliniska Vetenskaper

Brachyspira hyodysenteriae
- förekomst och epidemiologi i svenska
grisbesättningar

Anna Carlertz

*Uppsala
2016*

Examensarbete 30 hp inom veterinärprogrammet

*ISSN 1652-8697
Examensarbete 2016:43*

***Brachyspira hyodysenteriae* – förekomst och epidemiologi i svenska grisbesättningar**

***Brachyspira hyodysenteriae* – prevalence and epidemiology in Swedish pig farms**

Anna Carlertz

Handledare: *Claes Fellström och Annette Backhans, institutionen för Kliniska Vetenskaper*

Biträdande handledare: *Helle Unnerstad och Therese Råsbäck Statens Veterinärmedicinska Anstalt samt Maria Lindberg Svenska Djurhälsovården*

Examinator: *Magdalena Jacobson, institutionen för Kliniska Vetenskaper*

Examensarbete i veterinärmedicin

Omfattning: *30 hp*

Nivå och fördjupning: *Avancerad nivå, A2E*

Kurskod: *EX0736*

Utgivningsort: *Uppsala*

Utgivningsår: *2016*

Delnummer i serie: *Examensarbete 2016:43*

ISSN: *1652-8697*

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

Nyckelord: *Brachyspira hyodysenteriae, B. hyodysenteriae, svenska, grisbesättningar, förekomst, epidemiologi, RAPD*

Key words: *Brachyspira hyodysenteriae, B. hyodysenteriae, Swedish, pig farms, prevalence, epidemiology, RAPD*

Sveriges lantbruksuniversitet

Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Institutionen för Kliniska Vetenskaper

SUMMARY

Swine dysentery is caused by the spirochaete *Brachyspira (B.) hyodysenteriae* that is a severe and expensive disease, primarily affecting slaughter pigs. When a herd gets infected for the first time, the mortality rate can reach high levels. In herds where the disease has become chronic, a reduced weight gain might be the most prominent sign. The disease has a great impact on the animal welfare, it is expensive for the owners, and causes an increased use of antibiotics. In many European countries, although not in Sweden, *B. hyodysenteriae* has developed resistance towards some of the most commonly used antibiotics.

In 1996, a project started to reduce the prevalence of swine dysentery in Sweden. During the following ten years, the numbers of infected herds decreased tremendously. The positive development thereafter seemed to stagnate. During the last five years, the annual frequency rate of samples submitted to SVA (National Veterinary Institute) obtaining a positive result has been on a consistent level. The purpose of the project has been to survey the existence of *B. hyodysenteriae* in Swedish pig herds regarding the number of positive herds, geographic location and genetic diversity of species.

The plan was to use the result in a future eradication programme.

The project was divided in two parts. One part was a survey on potential relationships between the positive lab samples obtained, for which the RAPD fingerprinting method was used. The second part of the project was a questionnaire sent to Swedish pig health veterinarians. The veterinarians were asked to answer questions about the present situation of swine dysentery, how they managed infected herds and if they had been successful. The answering veterinarians were also contacted by phone for additional questions.

The result from the RAPD showed that the isolates submitted to SVA during recent years can be divided into three main genetic groups. The result from the questioning reveals a minor presence of infected herds in Sweden today. It seems that the most probable reason as to why some herds still are infected, is the probable lack of or failed attempts to sanitize. Among these herds there seem to be repetitive outbreaks of swine dysentery and they seem to spread the disease to other herds as well.

It is necessary to sanitize all infected herds and to perform a follow up with sampling after sanitation to ensure a successful eradication. It is also of great importance to trace the source of the infection.

Today, there are existing trade agreements against trading pigs from infected herds. Therefore, these pigs are treated with antibiotics at the time of delivery. If this possibility to misuse antibiotics was abandoned, several positive effects would be achieved. It would most probably increase the incentive to achieve a successful sanitation. This could in the future enable Sweden to be declared free from swine dysentery and to achieve a prudent use of antibiotics.

SAMMANFATTNING

Svindysenteri orsakas av spiroketen *Brachyspira (B.) hyodysenteriae* och är en allvarlig och kostsam sjukdom som främst drabbar slaktsvin. I det akuta sjukdomsutbrottet kan mortaliteten bli mycket hög och vid mer långvariga utbrott påverkas tillväxten hos grisarna negativt. Sjukdomen innebär ett stort lidande för djuren, höga kostnader för djurägarna samt en hög förbrukning av antibiotika. *B. hyodysenteriae* har i många länder i Europa utvecklat resistens mot några av de vanligast använda antibiotikumen, dock inte i Sverige.

År 1996 startades ett projekt för att minska förekomsten av svindysenteri i Sverige och under de följande tio åren skedde en drastisk minskning av antalet smittade besättningar. Den positiva utvecklingen verkade därefter stagnera och de senaste fem åren har den årliga frekvensen av inskickade positiva prover till SVA varit konstant.

Syftet med det här projektet var att kartlägga förekomsten av *B. hyodysenteriae* i svenska grisbesättningar, med avseende på antal positiva besättningar, geografisk lokalisation och genetisk diversitet av stammar. Resultatet var tänkt att utgöra en grund för ett eventuellt framtida utrotningsprogram.

Projektet delades upp i två delar. I den första delen undersöktes de inskickade positiva provernas släktskap med hjälp av fingerprintingmetoden RAPD. Den andra delen bestod av att svenska grishälsoveterinärer kontaktades för frågeställningar kring hur situationen ser ut idag, om de hanterat någon smittad besättning samt om de lyckats sanera den. Den sistnämnda delen bestod av en enkät med uppföljande telefonkontakt med vidare frågeställningar.

Resultatet från RAPD visade att de isolat som odlats fram från prover som skickats in till SVA de senaste åren utgörs av tre genetiska huvudgrupper. Resultatet från enkäten och de uppföljande intervjuerna ger en bild av en låg förekomst av smittade besättningar i Sverige idag. Informationen som här samlats in visar att den troligaste orsaken till att sjukdomen ännu finns kvar i vissa besättningar är misslyckade alternativt icke genomförda saneringar. Dessa besättningar får upprepade utbrott av svindysenteri och verkar även sprida sjukdomen till andra besättningar.

För att lyckas utrota svindysenteri helt är det nödvändigt att sanera samtliga infekterade besättningar samt att smittspåra och göra uppföljande provtagningar efter sanering. Redan idag finns restriktioner vid försäljning om besättningen drabbats av sjukdomen, men detta löses i praktiken genom att grisarna antibiotikabehandlas ut vid försäljning. Om denna möjlighet togs bort skulle flera positiva effekter kunna ses. Det skulle med stor sannolikhet öka motivationen till att genomföra en lyckad sanering, vilket på sikt skulle kunna få Sverige friförklarat från svindysenteri och det skulle också minska antibiotikaanvändningen.

INNEHÅLL

| | |
|---|----|
| Inledning | 1 |
| Litteraturgenomgång | 1 |
| Svindysenteri..... | 1 |
| Brachyspira hyodysenteriae | 1 |
| Svindysenteri i Sverige | 2 |
| Kliniska tecken..... | 2 |
| Diagnostik | 3 |
| Metoder för genotypning | 3 |
| Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) | 3 |
| Pulsfältselektrofores (PFGE) | 3 |
| Behandling | 4 |
| Sanering | 4 |
| Resistensläge..... | 5 |
| Syfte | 5 |
| Material och metoder | 5 |
| Undersökning av isolat | 5 |
| Epidemiologisk utbredning..... | 6 |
| Enkätundersökning | 6 |
| Uppföljande intervjuer | 6 |
| Resultat | 7 |
| Undersökning av isolat | 7 |
| Enkätundersökning | 11 |
| Besättningar | 11 |
| Sanering | 12 |
| Kontakter med andra besättningar | 13 |
| Uppföljande intervjuer | 14 |
| Förekomst i praktiken | 14 |
| Upplevda svårigheter med sanering..... | 14 |
| Utvärdering och uppföljning av sanering..... | 15 |

| | |
|-----------------------------------|------|
| Diskussion..... | 16 |
| Konklusion..... | 18 |
| Litteraturförteckning | 19 |
| Bilaga 1 | B1.1 |
| Enkät | B1.1 |
| Bilaga 2 | B2.1 |
| Resultat RAPD med primer 73 | B2.1 |
| Körning 1 | B2.1 |
| Körning 2 | B2.1 |
| Körning 3 | B2.2 |
| Körning 4 | B2.2 |

INLEDNING

Svindysenteri är en allvarlig sjukdom, med relativt hög mortalitet i det akuta sjukdomsutbrottet och som på sikt medför stora kostnader för de djurägare vars besättningar drabbas (Fellström *et al.*, 2005; Whiting, 1921) Svindysenteri kom till Sverige på 50-talet och spred sig sedan snabbt i landet (Fellström *et al.*, 2005). Sjukdomen karakteriseras av en slemmig, blodtillblandad diarré som främst drabbar slaktsvin. Den innebär ett stort lidande för djuren och även om mortaliteten kan hållas nere, påverkar det ofta tillväxten hos grisarna mycket negativt (Ronéus, 1960).

Efter en bred samlad insats år 1996-2000 sjönk antalet drabbade besättningar drastiskt (Fellström *et al.*, 2005). Nu verkar dock den positiva utvecklingen stagnerat och en relativt konstant mängd positiva prover har skickats in till SVA de senaste fem åren (SVA) Frågeställningen blir då om det är samma besättningar som sanerats alternativt ej genomfört sanering som upprepade gånger sprider smittan alternativt drabbas av nya sjukdomsutbrott? Hur stor är risken att bakterien finns kvar i en besättning efter en sanering? Kan nysmittade gårdar ha drabbats av nya varianter av *Brachyspira (B.) hyodysenteriae* från vektorer som smågnagare och fåglar?

Vidare frågeställningar är: betraktas svindysenteri som ett reellt problem bland grishälsoveterinärerna i Sverige nu när förekomsten är så låg? Finns det ett mörkertal beträffande besättningar som vid upprepade försök misslyckats med sin sanering eller sker det fortfarande provtagning på dessa gårdar med jämna mellanrum? Vilken typ av besättningar är det som drabbas och hur ser utbredningen i landet ut? Hur många stammar finns det? Finns det möjlighet att en gång för alla utrota sjukdomen inom nationens gränser?

LITTERATURGENOMGÅNG

Svindysenteri

Svindysenteri är en allvarlig och mycket kostsam sjukdom, som både orsakar ett stort lidande för de drabbade djuren och leder till en mycket hög antibiotikaförbrukning (Fellström och Holmgren, 2005). Sjukdomen beskrevs första gången av Whiting (1921) och orsaken ansågs vara en bakterie som fanns i grisars grovtarm samt avföring och som gavs namnet *Vibrio coli* (Whiting, 1924), men det var först 1971 som man kunde visa att det var just en spiroket som var orsaken (Taylor och Alexander, 1971).

Brachyspira hyodysenteriae

Sjukdomen orsakas av *B. hyodysenteriae*, som är en stor hemolyserande syretålig, anaerob spiroket (Ochiai *et al.*, 1997; Taylor och Alexander, 1971). Bakterien fick sitt nuvarande namn så sent som 1997 efter att det ändrats från det dåvarande namnet *Serpulina hyodysenteriae* (Ochiai *et al.*, 1997) .

B. hyodysenteriae kan överleva länge i miljön (Boye *et al.*, 2001) och kan även finnas hos vilda andfåglar (Jansson *et al.*, 2004). Backhans *et al.* (2011) genomförde en undersökning där de kunde påvisa att *B. hyodysenteriae* förutom andfåglar, även

kunde finnas hos gnagare och att dessa kunde utgöra en smittkälla (Backhans et al., 2011). Förekomsten av *B. hyodysenteriae* har i ett försök visat sig vara en procent hos gnagare i svenska grisbesättningar och tros vara en potentiell risk för smittspridning (Backhans et al., 2013).

Svindysenteri i Sverige

Svindysenteri beskrevs för första gången i Sverige 1960. Det var Ronéus (1960) som beskrev att gödsvinsbesättningar i södra Sverige drabbats av en ny och svårartad form av enterit som kunde misstänkas vara svindysenteri. I redogörelsen framgår också att sjukdomen troligtvis funnits i Sverige en tid men då misstagits för andra åkommor.

Från år 1996 finns alla prover som skickats in till SVA och som visat sig vara positiva med avseende på *B. hyodysenteriae* registrerade. Under perioden 1996-2000 bedöms det ha skett en tydlig minskning av antalet positiva besättningar i Sverige. Från och med den 1 januari 2000 finns ett certifieringssystem i Sverige för livsvinsproduktion, som garanterar frihet från svindysenteri. För att uppfylla kraven måste fyra provtagningar under en sexmånadersperiod vara negativa. Livsvinsproduktionen i Sverige är idag officiellt fri från svindysenteri. Vidare gäller för bruksbesättningarna anslutna till Svenska Djurhälsovården att misstänkt smittade smågrisar inte får försäljas. I praktiken innebär det att grisar från smittade bruksbesättningar antibiotikabehandlas innan försäljning. Inom bruksbesättningar sker provtagning vid misstänkta fall och smittspårning sker om svindysenteri konstaterats (Fellström et al, 2005).

I ett försök 2005 där Jacobson (2005) tog prover från 105 besättningar med fler än 100 suggor kunde ingen diagnostiseras med *B. hyodysenteriae*.

I en studie sammanställde Råsbäck (2009) förekomsten av svindysenteriutbrott i Sverige under perioden 1 januari 2007 till och med juni 2008 baserat på inkomna prover till SVA. Studien visade att 1,2% av Sveriges besättningar var infekterade. Dessutom misstänktes ett mörkertal eftersom sjukdomen kan ha ett subkliniskt förlopp (Råsbäck et al, 2009).

Hitintills har arbetet mot svindysenterin varit framgångsrikt, men än kvarstår utmaningar. De besättningar som är smittade förbrukar stora mängder tiamulin och risken för resistensutveckling är stor. Utveckling av resistens hos *B. hyodysenteriae* mot pleuromutiliner i Sverige skulle kunna bli förödande för svensk grisproduktion. En förutsättning för att undvika detta är att infektionen hanteras korrekt och att smittspridning mellan gårdar förhindras (Fellström et al, 2005).

Kliniska tecken

Svindysenteri drabbar främst slaktsvin med en vikt mellan 25 och 90 kg (Ronéus, 1960). Inkubationstid varierar oftast mellan 10-16 dagar (Fisher och Olander, 1981), men kan vara så kort som 5 dagar (Jacobson, 2004). Det mest karakteristiska kliniska tecknet på svindysenteri är en blodtillblandad, slemmig diarrè orsakad av en nekrotiserande kolit (Whiting, 1924). Allmäntillståndet är ofta kraftigt nedsatt och senare i sjukdomsförloppet kan man se vita gryn i avföringen till följd av att så kallade pseudomembran från tarmslemhinnan lossnat.

Svindysenteri är mycket smittsamt. I nyinfekterad besättning insjuknade alla djur inom en vecka (Ronéus, 1960). I den första beskrivningen av sjukdomen av Whiting (1921) angavs mortaliteten kunna bli så hög som 25 % medan den första beskrivningen i Sverige uppskattade mortaliteten till ca 10 % men att flera drabbade grisar utöver det behövde skickas till nödslakt (Ronéus, 1960). Det finns risk att smittan blir endemisk i drabbade besättningar, framförallt om det är ett kontinuerligt djurflöde, men även stallmiljön och gnagare kan verka som smittkälla (Fellström och Holmgren, 2005).

Diagnostik

Redan vid den första beskrivningen av svindysenteri i Sverige beskrevs svindysenteri ha en mycket typisk klinisk bild. Det ansågs många gånger räcka att inspektera avföringen okulärt för att på goda grunder kunna misstänka svindysenteri. (Ronéus, 1960).

Vid obduktion ses nekrotiserande kolit och tyflit. I mycket grava fall av sjukdomen kan även rektumslemhinna vara påverkad. I den drabbade slemhinnan ses hyperemi och blödningar samt pseudomembran. Innehållet i grovtarmen är tunnflytande. Tunntarmen är i regel opåverkad, men det är inte ovanligt att drabbade grisar har gastrit. (Ronéus, 1960)

Det säkraste sättet att diagnosticera *B. hyodysenteriae* är med odling och biokemiska tester och därefter konfirmera en positiv odling med PCR. (Råsbäck et al., 2006). *B. hyodysenteriae* är långsamväxande och måste odlas anaerobt (Stanton och Lebo, 1988; Hovind-Hougen et al, 1982) Odlingen och de biokemiska testerna är dock mycket tidskrävande och flera försök har gjorts för att få fram en snabbare metod som är lika sensitiv (Råsbäck et al., 2006).

Metoder för genotypning

Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)

RAPD är en PCR-baserad metod att genetiskt kartlägga bakterieisolats diversitet, vilket är användbart vid epidemiologiska studier (Dugourd et al., 1996). Vid RAPD används endast en primer och den är betydligt kortare än vid en vanlig PCR. Den primer som används binder ospecifikt till DNA-segment som då amplifieras. Efter amplifiering kan proverna sedan undersökas med hjälp av gelelektrofores, som innebär att proverna tillsätts till en agarosgel och sedan får vandra i gelen under elektrisk spänning. Under belysning av UV-ljus ses sedan de olika banden de olika isolaten gett. Metoden har visat sig lämplig för *B. hyodysenteriae* (Jansson et al., 2004; Fellström et al., 2008).

Pulsfältsgелеlektrofores (PFGE)

Pulsfältsgелеlektrofores är en molekylärbiologisk metod som gör det möjligt att skilja bakteriestammar åt. Ett restriktionsenzym klyver bakterieDNA i långa fragment. Genom att bakteriernas fragmenterade DNA får vandra genom en agarosgel i ett elektriskt fält med varierande spänning, så kommer varje stam av bakterien att uppvisa ett unikt mönster. RAPD har dock visat sig ge något bättre resultat vid undersökning av *B. hyodysenteriae* än vad PFGE gör (Fellström och

Holmgren, 2005; Fellström et al., 2008). Detta beror delvis på att ett optimalt protokoll för PFGE idag saknas (Fellström C., personlig kommunikation).

Behandling

Vid svindysenteri är det möjligt att behandla med antibiotika. Då det ofta är många grisar som drabbas samtidigt kan det vara en fördel att behandla via dricksvattnet. Vid allmänpåverkan rekommenderas däremot parenteral behandling. Även om antibiotikabehandling är möjlig bör den huvudsakliga bekämpningen av sjukdomen vara besättningssanering, för att eliminera smittämnet i besättningen (Ronéus, 1960; Hampson et al, 2006).

Vid antibiotikabehandling väljs främst tiamulin, valneumulin, tylosin och linkomycin, varav de två första som är pleuromutiliner är att föredra (Hampson et al., 2006). Pleuromutilin är det enda antibiotikum som anses tillräckligt effektivt att använda vid sanering (Fellström et al, 2005).

Sanering

Som tidigare beskrivits leder utbrott av *B. hyodysenteriae* i en besättning till stora konsekvenser både beträffande ekonomi och djurvälstånd. Baserat på de konsekvenser som följer ett utbrott anser Hampson *et al* (2006) att vid varje behandling mot *B. hyodysenteriae* i en besättning ska det slutliga målet alltid vara att utrota sjukdomen fullständigt. Hampson *et al* (2006) har därför sammanställt riktlinjer för utrotning av *B. hyodysenteriae* i en infekterad besättning. Dessa riktlinjer baseras till stor del på tidigare studier av Harris och Glock (1981) Baekbo (1998) och Løvens Kemiske Fabrik (1998).

För att en lyckad sanering skall vara genomförbar krävs först och främst adekvat provtagning för att dels bekräfta att infektion med *B. hyodysenteriae* föreligger men även utökad provtagning för att veta om det rör sig om en eller flera olika stammar. Bekräftade stammar bör resistensbestämmas för att valet av antibiotika ska bli så optimalt som möjligt. Vidare krävs även förebyggande åtgärder på besättningsnivå. En sanering kräver möjlighet till tomtider i samtliga grisstall, varför det inte är genomförbart i en kontinuerlig produktion. En adekvat skadedjursbekämpning bör också inledas innan behandlingen av djuren påbörjas. Tidpunkten för saneringen bör väljas med omsorg. För att få bästa möjliga resultat rekommenderas att genomföra saneringen under sommarhalvåret då *B. hyodysenteriae* har som svårast att överleva i miljön. Vidare bör saneringen genomföras med så få djur som möjligt i besättningen, både för att öka chansen att lyckas men också för att minimera antibiotikaförbrukningen (Hampson et al, 2006).

Inför saneringen bör tydliga hygienrutiner introduceras. Det kan till exempel röra sig om kläd- och skoombyte samt handtvätt innan inträde i varje avdelning, men också att hålla katter och hundar borta från byggnaderna. Under själva saneringen bör alla djur behandlas i minst 14 dagar via fodret eller dricksvattnet. Dessutom krävs det att alla stallar tvättas, desinficeras och får stå tomma i minst 14 dagar. Först efter detta kan de behandlade djuren sättas in i de rena stallarna och endast de

smågrisar som föds efter avslutad behandling anses tillräckligt rena för att släppas in i de tvättade stallarna. Under saneringen bör inte heller några inköp av nya djur göras (Hampson et al, 2006).

Resistensläge

Idag undersöks resistens hos alla till SVA inskickade isolat med avseende på makrolider och pleuromutiliner (Fellström *et al*, 2005). Några isolat av *B. hyodysenteriae* har visat nedsatt känslighet. Resistensen ser dock inte ut att ha ökat över tid. När det gäller tylosin klassas hälften av stammarna som resistenta (SVA, 2013). I övriga Europa ses en ökande problematik med resistens (Hidalgo et al., 2010). Vid jämförande studier angående antibiotikaförbrukning inom lantbrukets djur i olika länder i Europa, är Sverige ett av de länder som använder allra minst antibiotika (Grave *et al*, 2014).

SYFTE

Syftet med projektet är att kartlägga förekomsten av *B. hyodysenteriae* i svenska grisbesättningar, med avseende på antal positiva besättningar, geografisk lokalisering för smittade besättningar och genetisk diversitet för påvisade isolat. Resultatet är tänkt att utgöra en grund för ett eventuellt framtida utrottningsprogram med avseende på *B. hyodysenteriae* i svenska grisbesättningar.

MATERIAL OCH METODER

I studien ingår samtliga grisbesättningar i Sverige som provtagits med positivt resultat med avseende på *B. hyodysenteriae* som skickats in till SVA under perioden 1 januari 2010 fram till september 2014. Materialet inkluderar de isolat av *B. hyodysenteriae* som skickats in från ovanstående besättningar.

Vidare har även samtliga grishälsoveterinärer tillfrågats angående hantering av dysenteriutbrott i deras distrikt. Litteraturgenomgången har främst genomförts genom sökning av artiklar i PubMed men även genom att handledarna bidragit med material i form av artiklar och avhandlingar.

Undersökning av isolat

Projektet inleddes med att ett avtal slöts med Sveriges Veterinärmedicinska Anstalt (SVA) och övriga berörda parter för att få tillgång till de isolat av *B. hyodysenteriae* som skickats in sedan 2010. De odlades ut på FAA-plattor i anaerob miljö (anaerobklocka) i 37° C i 5 dagar och DNA preparerades som koklysat enligt följande metod som tidigare använts för *Brachyspira* spp:

1 µl av vardera bakteries renkultur tillsattes till 200 µl PBS utan Ca och Mg, därefter vortexades proverna och centrifugerades i 4 min med hastigheten 13000 rpm. Supernatanten kastades och 50 µl SuperQ-vatten tillsattes till vardera prov. Proverna vortexades och kokades sedan i 10 min. Därefter kylcentrifugerades de omedelbart i 4 min med hastigheten 7000 rpm. Supernatanten frystes in både ospädd och i en spädning 1:10 i -20°C (Fellström C, 1995; Fellström et al., 1997).

Samtliga isolat frystes även in i Brain Heart Infusion (BHI, SVA). När koklysat framställts och frysts in i -20° C, påbörjades Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). Till detta användes två primer (73 och 1254). Detta gjordes först i omgångar och slutligen kördes alla isolat samtidigt för att kunna jämföra samtliga mönster. I varje körning inkluderades ett negativt prov utan tillsatt DNA, för att kunna kontrollera att ingen kontamination skett. Proverna blandades enligt följande: 36,5 µl vatten, 5 µl 10xPCR-buffert, 2 µl primer 73 eller 1254, 4 µl MgCl₂, 4 µl dNTPs, 0,5 µl Taq polymerase (ej gold) samt 1 µl templat.

Därefter kördes proverna i BIORAD My Cycler termal cyclus enligt följande protokoll: (94°C i 45 s + 30°C i 2 min +72°C i 1 min)x4 + (94°C i 5 s + 36°C i 30 s + 72°C i 30 s)x26 + 72°C i 10 min + 4°C ∞.

Samtliga prover kördes sedan ut på en 1,5% agarosgel infärgad med GelRed under en spänning på 90 V i 30-40 min. När gelen var klar fotograferades den med UV-ljus i kameran BIORAD GEL DOC 2000 och bilderna lagrades i datorprogrammet QuantityOne.

Epidemiologisk utbredning

De besättningar som skickat in isolaten markerades ut på en Sverigekarta baserat på angivet postnummer. Markeringarna färgkodades utifrån det resultat som erhöles från ovanstående RAPD-undersökning.

Enkätundersökning

En enkät formulerades i det webbaserade programmet Netigate, där företaget Netigate via sin webbsida www.netigate.se tillhandahåller en möjlighet att göra enkäter online. Enkäten riktade sig främst till de grishälsöveterinärer i Sverige som sedan 2010 hanterat en grisbesättning som visat sig vara smittad av svindysenteri. Frågorna som ställdes inriktade sig på vilken typ av besättning det rörde sig om och hur besättningen hanterats efter att diagnosen svindysenteri konstaterats. Detta innebar framförallt frågor om huruvida en eventuell sanering genomförts och hur den i så fall sedan följts upp. Enkäten innehöll även frågor angående vilka förbindelser de smittade besättningarna hade med andra grisbesättningar samt om besättningen idag anses vara fri från svindysenteri. Se hela enkäten i bilaga 1.

Enkäten skickades sedan ut till de veterinärer som skickat in prover under den aktuella perioden (2010-2014) samt övriga grishälsöveterinärer på Svenska Djurhälsovården.

Uppföljande intervjuer

Utifrån de inkomna svaren på enkäten kontaktades samtliga svarande veterinärer som angivit att de hanterat en smittad besättning under den aktuella perioden via telefon för uppföljande frågor angående situationen i deras distrikt. De frågor som ställdes varierade utifrån de svar som inkommit i enkäten. Till samtliga veterinärer ställdes dock följande frågor:

- Hur ser situationen ut i ditt distrikt idag?
- Vilka svårigheter ser du i att lyckas utrota svindysenterin ur landet?

I förekommande fall ställdes också frågan varför de valt att inte sanera en drabbad besättning alternativt varför de inte lyckats trots att de försökt.

RESULTAT

Undersökning av isolat

Totalt hade det under perioden 2010 fram till september 2014, inkommit 34 isolat av *B. hyodysenteriae* till SVA, varav ett uppgavs vara dubblett till ett annat isolat. Sammanlagt 33 isolat hämtades därför upp från stamförrådet på SVA.

Av de 33 isolat som odlades växte samtliga ut bra efter fem dagar vid första försöket. 32 isolat var starkt hemolyserande, vilket är överensstämmande med *B. hyodysenteriae*. Det isolat som inte var starkt hemolyserande hanterades som övriga isolat fram tills att det bekräftats att det var *Brachyspira pilosicoli* som växte. Ett nytt försök att odla fram *B. hyodysenteriae* gjordes, men inte heller det lyckades. När det inte gick att odla fram, gjordes efterforskningar angående vilken typ av besättning isolatet härstammade från för att se om det fanns något annat prov från samma besättning. Tyvärr hittades inget annat prov och ingen vidare undersökning av isolatet kunde ske.

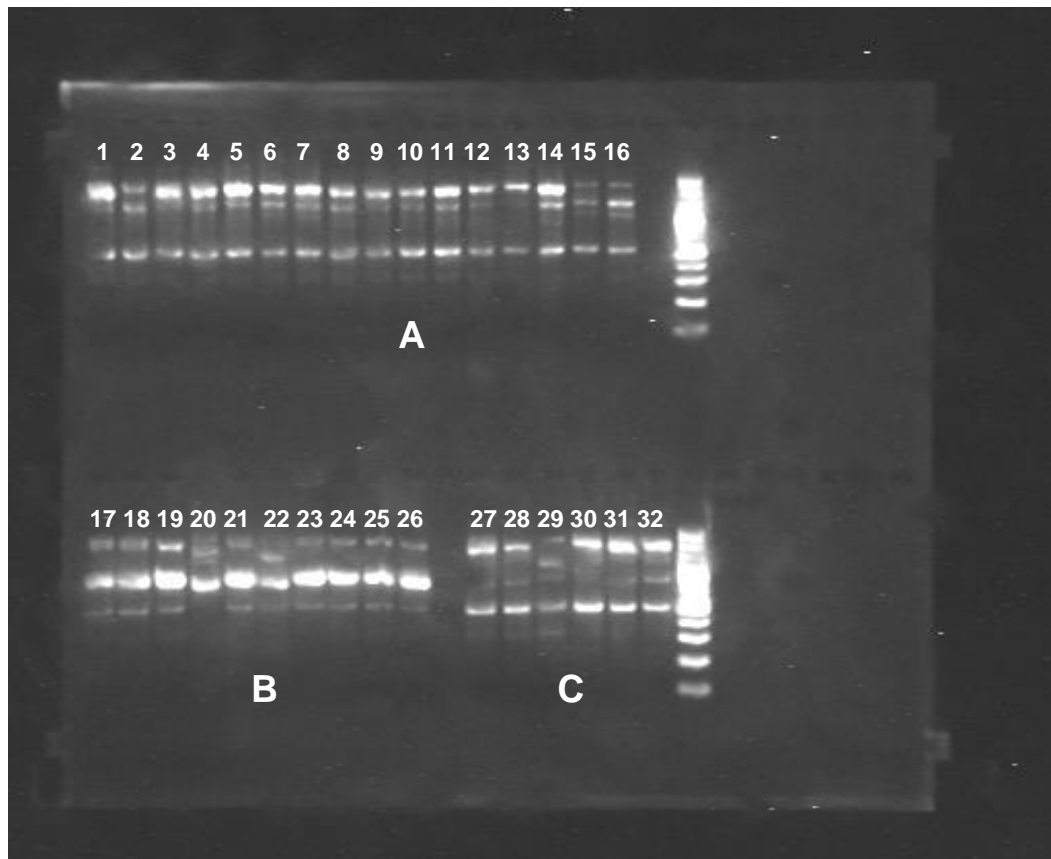
Av resterande 32 isolat, listade i tabell 1, växte alla utom en i renkultur. Det isolat som var kontaminerat renodlades genom att det fick växa genom ett filter med porstorlek 0,22 µm och strykas om på nya FAA-plattor innan arbetet kunde fortsätta.

När samtliga koklysat var klara påbörjades RAPD på de spädda proverna. RAPD kördes i omgångar med både primer 73 och 1254. I dessa körningar gav endast primer 73 ett resultat som var möjligt att analysera. Ingen av körningarna visade fler än 3 olika huvudgrupper av bandmönster, se resultat i bilaga 2. Slutligen kördes alla prover i samma omgång med båda primers, för att jämföra samtliga isolats bandmönster, men då fungerade endast primer 1254. De isolat som hade liknande mönster kördes sedan bredvid varandra, resultaten visas i figur 1. Isolaten kunde delas in i tre huvudgrupper. Mellan isolaten inom dessa grupper fanns mindre skillnader. De tre huvudgrupperna av RAPD-mönster som tolkades som unika benämns A, B och C. Resultaten från de tidigare körningarna med primer 73 bekräftar i stort sett dessa huvudgrupper. Isolat 1 och 6 kommer från samma besättning.

Tabell 1. Samtliga isolat grupperade i tre grupper A-C enligt RAPD-resultat. Även frysnummer från SVA och vilket årtal de inkommit till SVA anges.

| <u>Isolat</u> <u>(frysnr)</u> | <u>RAPD-</u> <u>mönster</u> | <u>Inkomna</u> <u>till SVA</u> <u>(År)</u> | <u>Isolat</u> <u>(frysnr)</u> | <u>RAPD-</u> <u>mönster</u> | <u>Inkomna</u> <u>till SVA</u> <u>(År)</u> |
|----------------------------------|--------------------------------|--|----------------------------------|--------------------------------|--|
| 1 (98:3) | A | 2010 | 17 (98:5) | B | 2010 |

| | | | | | |
|------------|---|------|------------|---|------|
| 2 (98:4) | A | 2010 | 18 (99:4) | B | 2010 |
| 3 (99:3) | A | 2010 | 19 (104:3) | B | 2010 |
| 4 (102:3) | A | 2010 | 20 (106:1) | B | 2011 |
| 5 (104:4) | A | 2011 | 21 (111:5) | B | 2012 |
| 6 (105:2) | A | 2011 | 22 (113:2) | B | 2012 |
| 7 (108:4) | A | 2011 | 23 (113:5) | B | 2013 |
| 8 (112:5) | A | 2012 | 24 (114:1) | B | 2013 |
| 9 (114:4) | A | 2013 | 25 (116:3) | B | 2013 |
| | | | 26 | | |
| 10 (115:1) | A | 2013 | (882:5039) | B | 2013 |
| 11 (116:2) | A | 2013 | 27 (105:5) | C | 2011 |
| 12 (117:1) | A | 2013 | 28 (108:1) | C | 2011 |
| 13 (118:1) | A | 2014 | 29 (110:2) | C | 2012 |
| 14 | | | | | |
| (887:5067) | A | 2014 | 30 (110:5) | C | 2012 |
| 15 (100:1) | A | 2010 | 31 (112:1) | C | 2012 |
| 16 (102:4) | A | 2010 | 32 (112:2) | C | 2012 |



Figur 1. RAPD-resultat med samtliga isolat grupperade i tre grupper A-C

Ovanstående tre mönster gavs en varsin färg och markerades ut på en Sverigekarta (figur 2) för att lättare kunna granska den epidemiologiska utbredningen. Markeringarna på kartan representerar de adresser som angivits på de inskickade remisserna.



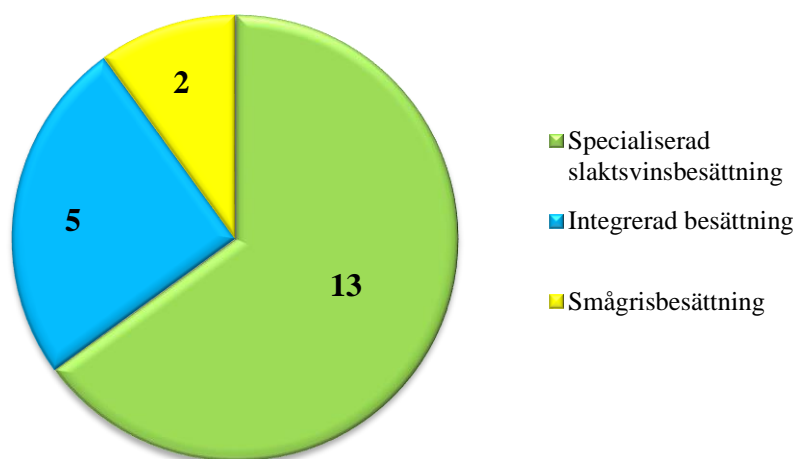
Figur 2. Grön färg visar isolat med mönster A, gul färg visar isolat med mönster B och röd färg visar mönster C.

Enkätundersökning

Enkätens utformning påverkades menligt av att djurägaridentiteten är en sekretessbelagd uppgift som inte får röjas för forskargruppen. Totalt inkom 20 svar.

Besättningar

Det var klart övervägande slaktsvinsbesättningar som förekom i enkätsvaren (figur 3). Av de 20 redovisade besättningarna var endast två stycken smågrisbesättningar och fem stycken integrerade besättningar. Två av de besättningar som angivits som specialiserade slaktsvinsbesättningar visade sig dock även föda upp egna smågrisar om än i relativt liten skala. I dessa båda fall hade det konstaterats att smittan köpts in.



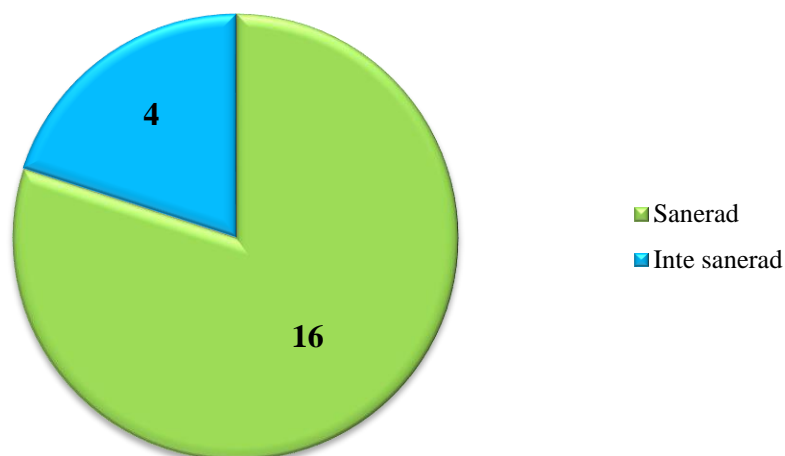
Figur 3. Typ av besättningar i enkätsvaren. Antal besättningar av respektive typ anges inom respektive tårtbit.

På vidare frågor om besättningstyp, var svarsfrekvensen något lägre och endast sju veterinärer besvarade dessa frågor. Samtliga som svarade angav dock att det var åldersektionerade, konventionella besättningar.

18 av 20 besättningar är fortfarande aktiva. På frågan hur antalet grisar var fördelade i besättningen idag, visade det sig dock att den ena av de två nedlagda besättningarna var en smågrisproducent som ännu hade ett trettiotal suggor kvar. Produktionen ska dock ha upphört idag. Den andra nedlagda besättningen var en specialiserad slaktsvinsbesättning.

Sanering

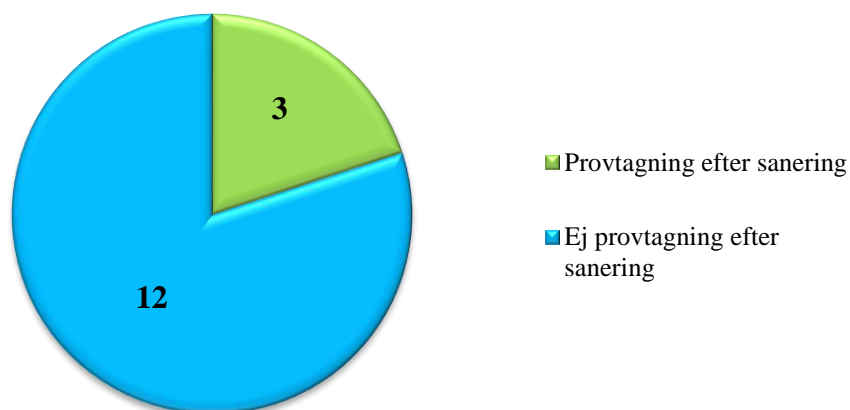
I 16 av de 20 besvarade fallen, angavs att besättningarna sanerats (figur 4).



Figur 4. Fördelning av antalet sanerade och icke sanerade besättningar i enkätsvaren. Antalet inom vardera grupp anges inom respektive tårtbit.

Av de fyra besättningar som inte sanerats var tre integrerade besättningar och en var en specialiserad slaktsvinsbesättning.

Av de 16 som svarade att gården sanerats hade 15 besvarat frågan om uppföljande provtagning efter sanering (figur 5). I det fallet som inte besvarats avses den besättning som upphört med produktion och räknades som att den hade sanerats genom detta.

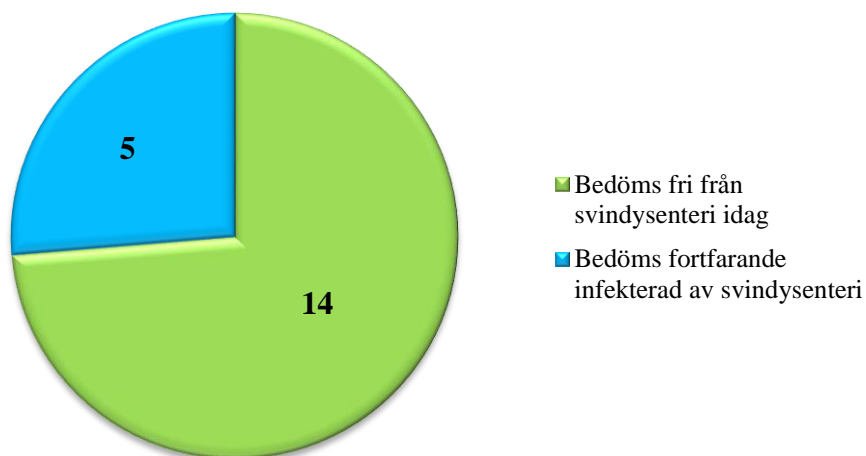


Figur 5. Fördelning av antalet provtagna och icke provtagna besättningar efter sanering i enkätsvaren. Antalet inom vardera grupp anges inom respektive tårtbit.

I en av besättningarna pågick fortfarande saneringen och i en besättning togs uppföljande prover regelbundet trots att ingen sanering genomförts.

Tre av 13 besättningar hade provtagits efter sanering och i ingen av dessa hittades något positivt prov vid den uppföljande provtagningen. Endast i den besättning som inte sanerats angavs att ett uppföljande prov varit positivt.

På frågan om huruvida den drabbade besättningen bedömdes som fri från svindysenteri angav 14 av 19 att besättningen bedömdes som fri vid tillfället för enkätsvaret (figur 6). Fem av de 20 besättningar som drabbats av svindysenteri de senaste fem åren, bedömdes alltså vara smittade.

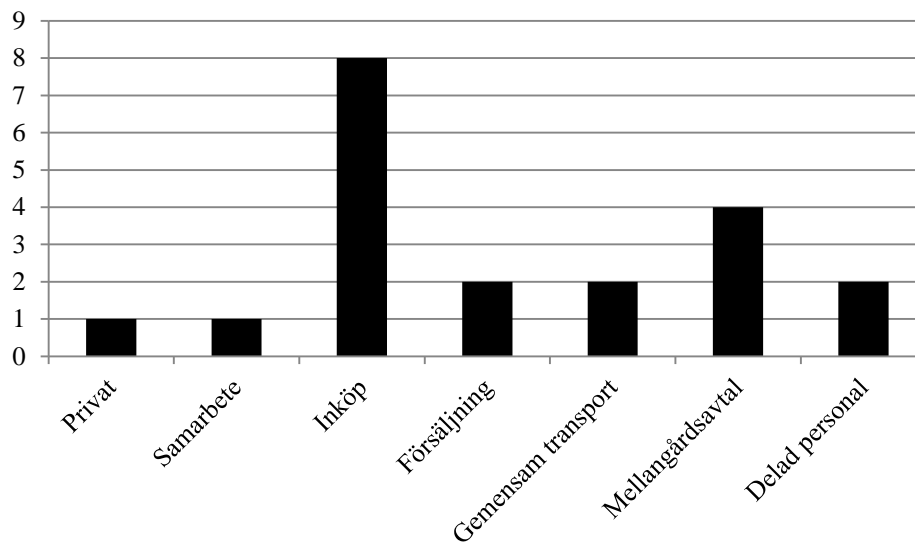


Figur 6. Fördelning av antalet besättningar som bedöms som fria respektive inte fria från svindysenteri i enkätsvaren. Antalet inom vardera grupp anges inom respektive tårtbit.

Kontakter med andra besättningar

Den vanligaste kontakten för de drabbade besättningarna var via inköp (figur 7).

Antal



Figur 7. Förbindelser med andra besättningar fördelat efter antal inom respektive grupp.

I fyra fall där förbindelse med annan besättning angavs, hade även kontaktbesättningen visat symptom på svindysenteri. Totalt provtogs sex kontaktbesättningar, där två av dem inte visat några symptom. Av de provtagna kontaktbesättningarna visade det sig vara tre besättningar som var positiva med avseende på svindysenteri. I ett av fallen var det en slaktsvinsbesättning som köpt in grisar från en smittad besättning och i två av fallen var det smågrisbesättningar som via försäljning och mellangårdsavtal smittat andra besättningar.

Uppföljande intervjuer

De veterinärer som besvarat enkäten och angett sitt namn kontaktades via telefon för uppföljande frågor. De frågor som ställdes i samtliga fall var hur veterinärerna ansåg att situation var i deras distrikt för tillfället samt varför de inte valt alternativt inte lyckats att sanera besättningar i förekommande fall. De tillfrågades också allmänt om vilka svårigheter de såg med att bekämpa svindysenterin i Sverige samt hur stort problem de tyckte att sjukdomen utgjorde.

Förekomst i praktiken

De kontaktade veterinärerna hade alla en bild av situationen i sitt distrikt som väl överensstämde med vad som framkommit i enkäten. Det totala antalet smittade besättningar bekräftades vid intervjuerna till fem stycken. Angående skillnader i de olika distrikten kunde det konstateras att under de senaste fem åren hade Skåne och Halland haft flest smittade besättningar. Sex besättningar hade konstaterats i Västergötland och en i Östergötland.

Upplevda svårigheter med sanering

De intervjuade veterinärerna hade olika åsikter angående vilka svårigheter som sågs i bekämpningen av svindysenteri. Några såg inte något problem alls utan hade

lyckats sanera alla besättningar som drabbats. Dessa veterinärer tyckte även genomgående att arbetet mot svindysenteri var mycket viktigt och arbetade utifrån målet att lyckas utrota sjukdomen helt ur landet. Det fanns även de som verkligen kämpat för att sanera alla drabbade besättningar men som misslyckats och då främst på grund av otillräckligt motiverade djurägare. Denna brist på motivation tog sig uttryck i antingen att inte alls vilja sanera eller att genomföra en otillräcklig sanering. Vidare var det några veterinärer som gett upp kampen om att lyckas bekämpa svindysenteri och accepterat att de hade några smittade besättningar som inte blev fria. I vissa fall var det en låg förekomst av infektionen hela tiden och i vissa besättningar försöktes det med tvätt mellan omgångarna, men förr eller senare dök smittan upp igen utan att den gick att härleda till någon tydlig inkörsport.

Slutligen fanns de veterinärer som inte längre tyckte att svindysenteri utgör ett problem då frekvensen minskat avsevärt och att Lawsonia-infektioner är ett betydligt större problem för dagens djurägare än svindysenteri. I det sistnämnda fallet fanns det också åsikter om att en sanering av både svindysenteri och Lawsonia var praktiskt omöjliga.

Vid intervjuerna frågades det också om i vilken utsträckning skadedjur bekämpats i samband med saneringen. I de fall där saneringarna misslyckats hade ingen utökad skadedjursbekämpning skett, medan de veterinärer som lyckats sanera bort sjukdomen i vissa fall ägnat långa perioder åt skadedjursbekämpning innan en sanering kunnat genomföras.

Utvärdering och uppföljning av sanering

De flesta ansåg sig ha genomfört en lyckad sanering då inga nya kliniska tecken kunnat iakttas.

I de fall som uppföljande provtagning gjorts var det i samtliga fall för att det fanns misstanke om en kvarstående infektion i besättningen. Det nämndes dock vid flera tillfällen att veterinärerna trodde att det var svårt att sanera helt och hållet och många som tyckte sig ha genomfört lyckade saneringar ändå trodde att nya utbrott skulle kunna ske på grund av att smittan fanns kvar i husen.

I de fall som djurägarna inte gick att motivera till sanering fick samtliga grisar behandlas ut vid en eventuell försäljning. Detta gällde främst smågrisproducenter som förmedlade smågrisar. I samtliga fall behandlades grisarna med Denagard som är ett pleuromutilinpreparat.

Det framkom även att flera av besättningarna där *B. hyodysenteriae* konstaterats egentligen aldrig misstänkts vara smittade med svindysenteri då de kliniska tecknen hade varit atypiska. I dessa fall rörde det sig om besättningar som antingen haft problem med diarréer eller nedsatt tillväxt och svindysenteri konstaterats genom provtagning då inga andra orsaker kunnat identifieras.

DISKUSSION

Den molekylärbiologiska undersökningen av isolaten, enkäten och de uppföljande intervjuerna ger tillsammans en relativt enhetlig bild över svindysenterins utbredning i Sverige idag.

Undersökning av de till SVA inkomna isolaten visade efter RADP endast tre tydligt unika mönster hos de totalt 32 isolat som slutligen undersöktes. Att variationen inte är större än så tyder på att det i de allra flesta fall är isolat från samma stam som smittat flera besättningar de senaste fem åren. Det mönster som i resultatdelen benämns A är vanligast förekommande. Med detta resultat kan det misstänkas att smittovägen främst är mellan olika besättningar och att det är de stammar som finns i landet sedan tidigare som fortsätter att orsaka sjukdomsutbrott. Det är förstås också möjligt att smittan kvarstår latent i en besättning under flera år för att sedan blossa upp i ett nytt sjukdomsutbrott. Bakterien kan då finnas hos kroniska bärare, i miljön eller hos skadedjur som kan verka som reservoarer.

RAPD-undersökningen av isolaten hade kunnat ge ett säkrare resultat om både primer 73 och primer 1254 fungerat vid alla körningarna. Tyvärr fanns inte tid och möjlighet att göra om dessa körningar. Resultatet som erhöles tyder dock på låg diversitet.

De isolat som i resultatdelen benämns som C skickades endast in under 2011 och 2012 och det finns en möjlighet att dessa inte längre finns kvar i landet. Under 2014 har endast isolat av den typ som benämns som A i resultatdelen skickats in.

Via isolaten fanns tillgång till vilken ort de olika isolaten kom från och när dessa märktes ut på en karta över Sverige, kunde ingen tydlig fördelning av de olika stammarna ses. Kartan ger en tydlig bild av vilka geografiska områden som är värst utsatta av svindysenteri. Det är Skåne och Halland som haft majoriteten av de positiva besättningarna under den undersökta perioden, vilket också bekräftades vid de uppföljande intervjuerna. Isolaten kunde inte relateras till de svar som inkom i enkäten, eftersom de svarande veterinärerna av sekretessskäl inte ville lämna ut den informationen. Därför går det inte att bekräfta eller avfärda att besättningar som drabbats av samma stam av *B. hyodysenteriae* haft direkt eller indirekt kontakt. Det kan idag inte anses självklart att de besättningar som geografiskt ligger nära varandra har ett inbördes samarbete, även om geografisk närhet troligtvis ökar möjligheten att ett samarbete föreligger.

Att *B. hyodysenteriae* dessutom kan finnas hos gnagare, fåglar och även i stallmiljön efter en otillräcklig sanering gör det svårt att uttala sig om huruvida en besättning som tidigare varit drabbad av svindysenteri vid ett nytt sjukdomsutbrott återintroducerat smittan eller om den helt enkelt kvarstannat latent i besättningen. Här hade två isolat från två olika stammar kunnat visa att det faktiskt rört sig om en ny infektion, men samma stam hade inte självklart inneburit att smittan funnits kvar i besättningen sedan tidigare. För att kunna undersöka detta krävs att det finns isolat sparade från olika tidsperioder. Det förekom bara ett sådant fall i materialet för den här studien och de båda isolaten visade sig ha samma RAPD-mönster och var det som benämns som A i resultatet. Ingen jämförelse med isolat sparade sedan

tidigare har gjorts, men det skulle vara intressant för att kunna uttala sig om vilken utveckling som skett i Sverige under de senaste åren.

De inkomna svaren i enkäten ger tydliga resultat som alla går i samma riktning. Först och främst bekräftas att det främst är slaktsvinsbesättningar som drabbas, vilket stämmer väl överens med de beskrivningar som finns för *B. hyodysenteriae* i grisbesättningar. Vidare kan det konstateras att de allra flesta besättningar som smittats under den aktuella perioden sanerades och att saneringen bedömts som lyckad i de allra flesta fall. I samtliga fall där de kliniska tecknen på svindysenteri upphört efter sanering, har saneringen bedömts som lyckad och ingen uppföljande provtagning har genomförts. Detta är anmärkningsvärt då det gör det svårt att utvärdera det egentliga resultatet. På vidare frågeställning om eventuella kontakter med andra besättningar var inköp av grisar den allra vanligaste formen av förbindelse, vilket kan relateras till att majoriteten av besättningarna hade slaktsvin.

Vid de uppföljande intervjuerna med de veterinärer som besvarat enkäten, bekräftades det som framkommit genom de inkomna svaren. Antalet smittade besättningar vid tillfället för intervjuerna konstaterades vara totalt fem stycken i de områden som de svarande veterinärerna var verksamma.

Vidare framkom att det fanns en stor skillnad i hur de olika veterinärerna uppfattade problematiken med svindysenteri, vilket inte framkom i enkäten. Saneringarna innebar inte samma åtgärder för veterinärerna. Det är dock mycket positivt att så många drabbade besättningar har sanerats, men en aning oroväckande att inga uppföljande prover tagits så länge det inte funnits misstanke om en otillräcklig sanering. Om detta ställs i relation till tillvägagångssättet när Sverige lyckades bli officiellt fritt från svindysenteri i livsvinsproduktionen, så kan detta vara en av anledningarna till att antalet infekterade besättningar inte längre minskar. Med tanke på att det är känt att bakterien kan kvarstå i miljön länge och att gnagare och fåglar kan utgöra reservoar för smittan, borde inte besättningar friförklaras innan det finns provtagning som stärker detta.

Istället har den motsatta metoden använts att besättningar betraktas som fria om inga kliniska tecken på svindysenteri föreligger och först då sådana uppträder sker provtagning som eventuellt kan bekräfta en kvarstående smitta. Dock ska det tilläggas att det inte är helt lätt att identifiera kroniska smittbärare och en bättre metod för detta skulle behövas.

Vidare framgår det tydligt att besättningar visat sig vara infekterade med *B. hyodysenteriae* vid provtagning trots att ingen misstanke förelegat. I andra fall har besättningar betraktats som friska då de kliniska tecknen avklingat efter sanering. De har då fått försälja grisar, men i ett senare skede har det visat sig att smittan kvarstått i besättningen. Detta är en potentiell risk för fortsatt spridning av smittan.

Den största risken för fortsatt smittspridning är troligtvis smittade smågrisbesättningar med subkliniska symptom som säljer sina grisar vidare till andra besättningar. Dessa smågrisbesättningar kan vara mycket svåra att identifiera om de inte uppvisar några kliniska tecken på svindysenteri och risken är att de upptäcks först då slaktsvinsbesättningar som köpt grisar från de aktuella gårdarna drabbas. Inköp visades sig dessutom i enkäten vara den vanligaste orsaken till

sjukdomsutbrott. Trots detta var det endast tre fall där veterinärerna via smittspårning säkerställt hur *B. hyodysenteriae* kommit in i besättningen.

Flera saker som skulle kunna äventyra möjligheten att helt utrota svindysenteri ur landet kom dock fram vid intervjuerna, dels att vissa gårdar anses omöjliga att sanera och då framför allt på grund av bristande motivation hos djurägare. En fullständig utrotning av sjukdomen är omöjlig om detta ska få påverka besluten. För att lyckas krävs ett gemensamt förhållningssätt där alla infekterade gårdar ska saneras. För att öka motivationen hos djurägare bör möjligheten att försälja grisar efter antibiotikabehandling begränsas. Det är mycket viktigt att denna kontinuerliga behandling som idag sker i infekterade besättningar upphör så snart som möjligt för att inte resistens mot pleuromutiliner ska uppstå. Pleuromutiliner är de enda effektiva antibiotika som kan användas vid en sanering.

Det kan dock mycket väl vara så att det finns besättningar som är mycket svåra att sanera men om endast ett fåtal sådana besättningar kvarstår, kan det vara indicerat att tillämpa utslagning inte bara för att förhindra ett fortsatt lidande för de djur som smittas utan även för att minska antibiotikaanvändningen och framför allt risken för en utbredd antibiotikaresistens.

Trots en relativt hög svarsfrekvens i enkäten och de uppföljande intervjuerna omfattades slutligen endast 20 av de 32 besättningar som skickat in positiva prover under den undersökta perioden. Det utelämnar tolv besättningar som fortfarande kan vara infekterade med svindysenteri rent teoretiskt. Till dessa ska de fem besättningar som angetts vara infekterade i dagsläget läggas och då rör det sig alltså om totalt 17 möjligt infekterade besättningar. Då det inte vid någon intervju framkommit några uppgifter om vilka besättningar detta skulle kunna vara, kanske det allra troligaste är att majoriteten av dem idag upphört med sin verksamhet.

Tyvärr kan inte heller de sanerade besättningarna garanteras vara smittfria innan provtagning bekräftat detta.

KONKLUSION

Vi har möjlighet att helt utrota svindysenteri ur Sverige då förekomsten är mycket låg. Vi har tidigare lyckats eliminera smittan inom livdjursproduktionen och borde kunna eliminera smittan även i bruksbesättningar. Med tanke på resistensutvecklingen som sker successivt bör detta göras så snart som möjligt. I de besättningar där tillgängliga antibiotika har otillräcklig effekt, kan utslagning tillämpas. Detta kräver dock att djurägarna får någon form av ersättning för sina ekonomiska förluster. Det första steget måste vara en bred insats från verksamma veterinärer att genom provtagning och smittspårning identifiera samtliga infekterade besättningar. Att endast förlita sig på de kliniska tecknen har visat sig opålitligt.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Backhans, A., Jacobson, M., Hansson, I., Lebbad, M., Thisted Lambertz, S., Gammelgård, E., Saager, M., Akande, O. och Fellström, C. (2013). Occurrence of pathogens in wild rodents caught on Swedish pig and chicken farms. *Epidemiologi och infektion*, 141:1885-1891.
- Backhans, A., Jansson, D.S., Aspán, A. och C., Fellström (2011). Typing of *Brachyspira* spp. from rodents, pigs and chickens on Swedish farms. *Veterinary Microbiology*, 153:156-162.
- Baekbo, P (1998). Sanering for sygdomme-danske erfaringer. *Veterinärinformation*:16-19.
- Boye, M., Baloda, S.B., Leser, T.D. och Möller, K. (2001). Survival of *Brachyspira hyodysenteriae* and *B. pilosicoli* in terrestrial microcosms. *Veterinary microbiology*, 81:33-40.
- Dugourd, D., Jaques, M., Bigras-Poulin, M. och Harel, J. (1996). Characterization of *Serpulina hyodysenteriae* isolates of serotypes 8 and 9 by random amplification of polymorphic DNA analysis. *Veterinary Microbiology* 48 (1996) 305-314, 48:305-314.
- Fabrik, Løvens Kemiske (1998) 'In Plan för sanering av svinedysenteri'.
- Fellström, C. (1995). Phenotypical characterisation of intestinal spirochaetes isolated from pigs. *Research in Veterinary Science*, 59:1-4.
- Fellström C, Petterson B, Uhlén M, Gunnarsson A, Johansson KE (1995). Phylogeny of *Serpulina* based on sequence analyses of the 16 s rRNA gene and comparison with scheme involving biochemical classification. *Research in Veterinary Science*, 59:5-9.
- Fellström, C. och Holmgren, N. (2005). *Brachyspira*-serie del 2, Möss som reservoar för dysenterismitta i en slaktsvinsbesättning. *Svensk Veterinärtidning*, 13:19-21.
- Fellström, C. och Holmgren, N. (2005) '*Brachyspira*-serie del 2, Möss som reservoar för dysenterismitta i en slaktsvinsbesättning', *Svensk Veterinärtidning*, pp. 19-21.
- Fellström, C., Petterson, B., Thomson, J., Gunnarsson, A., Persson, M. och Johansson, KE. (1997). Identification of *Serpulina* Species Associated with Porcine Colitis by Biochemical Analysis and PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 35:no. 2:463-467.
- Fellström, C., Råsbäck, T. och Gerth Löfstedt, M. (2005). *Brachyspira*-serie del 1, Svindysenteri i Sverige - historik, bekämpning och framtidsutsikter. *Svensk Veterinärtidning*, 8-9:19-24.
- Fellström, C., Råsbäck, T. och Gerth Löfstedt, M. (2005). *Brachyspira*-serie del 1, Svindysenteri i Sverige - historik, bekämpning och framtidsutsikter, 8-9:19-24.

- Fellström, C., Råsbäck, T., Johansson, KE., Olofsson, T. och Aspán, A. (2008). Identification and genetic fingerprinting of *Brachyspira* species. *Journal of microbiological methods*, 72:133-140.
- Fisher, L.F. och Olander, H.J. (1981). Shedding of *Treponema hyodysenteriae*, transmission of disease, and agglutinin response to pigs convalescent from swine dysentery. *American Journal of Veterinary Research*, 42, Mars:450-455.
- Grave, K., Torren-Edo, J., Muller, A., Greko, C., Moulin, G. och Mackay, D. (2014). Variations in the sales and sales patterns of veterinary antimicrobial agents in 25 European countries. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 69:2284-2291.
- Hampson, D.J., Fellström, C. och Thomson, J.R. (2006). Swine dysentery. I: Straw B.E., Zimmerman J.J., D'Allaire S. & Taylor D.J. (Red.) *Diseases of Swine*. 9th edition, Ames, IA, USA: Blackwell Publishing Professional, 785-805.
- Harris, D.L. och Glock, RD (1981) *Swine dysentery*. In *Diseases of swine (5th edition)*.
- Hidalgo, A., Carjaval, A., Pringle, M., Rubio, P. och Fellström, C. (2010). Characterization and epidemiological relationships of Spanish *Brachyspira hyodysenteriae* field isolates. *Epidemiology and infection*, 138:76-85.
- Hovind-Hougen, K., Birch-Andersen, A., Henrik-Nielsen, R., Orholm, M., Pedersen, J.O., Teglbjærg, P.S. och Thaysen, E.H. (1982). Intestinal spirochetosis: morphological characterization and cultivation of the spirochete *Brachyspira aalborgi* gen. nov., sp. nov. *Journal of Clinical Microbiology*, 16:1127-1136.
- Jacobson, M. (2003). Enteric diseases in pigs from weaning to slaughter.
- Jacobson, M. (2004). Experimental swine dysentery: comparison between. *Journal of Medical Microbiology*, 53:273-280.
- Jacobson, M., Gerth Löfstedt, M., Holmgren, N., Lundeheim, N. och Fellström, C. (2005). The Prevalences of *Brachyspira* spp. and *Lawsonia intracellularis* in Swedish Piglet. *Journal of Veterinary Medicine*, 52:386-391.
- Jansson, D., Johansson, KE., Olofsson, T., Råsbäck, T., Vågsholm, I., Pettersson, B., Gunnarsson, A. och Fellström, C. (2004). *Brachyspira hyodysenteriae* and other strongly B-haemolytic and indole-positive spirchaetes isolated from mallards (*Anas platyrhynchos*). *Journal of Medical Microbiology*, 53:293-300.
- Løvens Kemiske Fabrik (1998) 'In Plan för sanering av svinedysenteri'.
- Ochiai, S., Adachi, Y. och Mori, K. (1997). Unification of the genera *Serpulina* and *Brachypira* and proposals of *Brachyspira hyodysenteriae* Comb. Nov., *Brachyspira innocens* Comb Nov. and *Brachyspira pilosicoli* Comb. Nov. *MICROBIOLOGY and IMMUNOLOGY*, 41:no. 6:445-452.
- Ronéus, O. (1960). Svindysenteri - en för Sverige ny enteritform. *Nordisk Veterinaermedicin*, 12:648-657.

- Råsbäck T, Johansson KE, Jansson DS, Båverud V, Fellström C (2009). Laboratoriediagnostik av Brachyspiraarter och en ny svindysenteribakterie. *Svensk*, 8-9:11-16.
- Råsbäck, T., Fellström, C., Gunnarsson, A. och Aspån, A. (2006). Comparison of culture and biochemical tests with PCR for detection of Brachyspira hyodysenteriae and Brachyspira pilosicoli. *Journal of Microbiological Methods*, 66:347-353.
- Råsbäck, T., Johansson, KE., Jansson, DS., Båverud, V. och Fellström, C. (2009). Laboratoriediagnostik av Brachyspiraarter och en ny svindysenteribakterie. *Svensk Veterinärtidning*, 8-9:11-16.
- Stanton, T.B. och Lebo, D.F. (1988). Treponema hyodysenteriae growth under various culture. *Veterinary Microbiology* 18, 18:177-190.
- SVA, Statens Veterinärmedicinska Anstalt (2013) 'Swedres-SWARM 2013 Use of antimicrobials and occurrence of antimicrobial resistance in Sweden'.
- Taylor, DJ. och Alexander, TJL. (1971). The production of dysentery in swine by feeding cultures containing a spirochaete. *British Veterinary Journal*, 127:58-61.
- Whiting, R.A. (1924). Swine dysentery. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 64:600-610.

BILAGA 1

Enkät

Kan vi utrota svindysenterin i Sverige?

Enkätens syfte är att undersöka de besättningar som under perioden 2010-2014 har drabbats av svindysenteri.

Fyll i en enkät per besättning om det är så att du haft flera besättningar som drabbats av svindysenteri under den här perioden.

Tack på förhand!

1. Vilken typ av besättning är den drabbade besättningen?

- Gyltproducent
- Tillfällig gyltproducent
- Serogris
- Smågrisproducent
- Integrerad besättning
- Specialiserad slaktsvinsbesättning
- Suggpool, centralenhet
- Suggpool, satellit
- Åldersektionerad
- Kontinuerlig drift
- Konventionell
- KRAV

2. Besättningens ID-nummer i denna undersökning

- A
- B
- C
- D
- E

*Obligatorisk

3. Finns det grisar i besättningen idag?

- Ja
- Nej

4.Om ja på föregående fråga, ange följande

Antal suggor

Grisningsintervall

Antal slaktgrisplatser

Antal slaktgrisavdelningar

Annat

5.Har besättningen sanerats efter att diagnosen svindysenteri (Brachyspira hyodysenteriae) bekräftats?

- Ja
- Nej

6.Om ja på föregående fråga, när har saneringen skett?

7.Har uppföljande prover tagits efter en eventuell saneringen?

- Ja
- Nej

8.Om ja på föregående fråga, när i förhållande till saneringen?

9.Om ja på fråga 8, var något prov positivt med avseende på svindysenteri (Brachyspira hyodysenteriae)?

- Ja
- Nej

10.Bedöms gården i dagsläget vara fri från symptom på svindysenteri (Brachyspira hyodysenteriae)?

- Ja
- Nej

11.Har den drabbade besättningen någon förbindelse/kontakt med någon annan grisbesättning?

Flera kryss är tillåtna

- Privat
- Samarbete
- Inköp
- Försäljning
- Gemensam transport
- Mellangårdsavtal
- Maskinsamarbete
- Gemensamma redskap
- Gemensam gödselbrunn/platta
- Delad personal

12.Om besättning angivits på föregående fråga, har den uppvisat symptom på svindysenteri (Brachyspira hyodysenteriae)?

- Ja
- Nej

13.Om ja på föregående fråga, har den besättningen provtagits med avseende på svindysenteri?

- Ja
- Nej

14.Om den provtagits, var den positiv med avseende på svindysenteri?

- Ja
- Nej

15.Veterinärens namn och telefonnummer

*Obligatorisk

BILAGA 2

Resultat RAPD med primer 73

Tabell 2. Resultat RAPD med primer 73 i fyra körningar med olika isolat. De mönster A, B och C som anges är unika för varje körning.

Körning 1

| <u>Isolat (frysnr)</u> | <u>RAPD-mönster</u> | <u>Inkomna till SVA (År)</u> |
|------------------------|---------------------|------------------------------|
| 98.3 | A | 2010 |
| 98.4 | B | 2010 |
| 98.5 | C | 2010 |
| 99.4 | B | 2010 |

Körning 2

| <u>Isolat (frysnr)</u> | <u>RAPD-mönster</u> | <u>Inkomna till SVA (År)</u> |
|------------------------|---------------------|------------------------------|
| 98.2 | A | 2010 |
| 102:3 | B | 2010 |
| 102:4 | B | 2010 |
| 104:3 | B | 2010 |
| 104:4 | B | 2011 |
| 105:2 | B | 2011 |
| 105:5 | B | 2011 |
| 106:1 | C | 2011 |
| 108:1 | B | 2011 |
| 108:4 | B | 2011 |

Körning 3

| <u>Isolat (frysnr)</u> | <u>RAPD-mönster</u> | <u>Inkomna till SVA (År)</u> |
|------------------------|---------------------|------------------------------|
| 99:3 | A | 2010 |
| 100:1 | B | 2010 |
| 110:2 | B | 2012 |
| 20 (106:1) | B | 2011 |
| 21 (111:5) | B | 2012 |
| 22 (113:2) | B | 2012 |
| 23 (113:5) | B | 2013 |
| 24 (114:1) | B | 2013 |
| 25 (116:3) | B | 2013 |
| 26 (882:5039) | B | 2013 |
| 27 (105:5) | C | 2011 |
| 28 (108:1) | C | 2011 |
| 29 (110:2) | C | 2012 |
| 30 (110:5) | C | 2012 |
| 31 (112:1) | C | 2012 |
| 32 (112:2) | C | 2012 |

Körning 4

| <u>Isolat (frysnr)</u> | <u>RAPD-mönster</u> | <u>Inkomna till SVA (År)</u> |
|------------------------|---------------------|------------------------------|
| 17 (98:5) | B | 2010 |
| 18 (99:4) | B | 2010 |
| 19 (104:3) | B | 2010 |
| 20 (106:1) | B | 2011 |
| 21 (111:5) | B | 2012 |
| 22 (113:2) | B | 2012 |
| 23 (113:5) | B | 2013 |

| | | |
|---------------|---|------|
| 24 (114:1) | B | 2013 |
| 25 (116:3) | B | 2013 |
| 26 (882:5039) | B | 2013 |
| 27 (105:5) | C | 2011 |
| 28 (108:1) | C | 2011 |
| 29 (110:2) | C | 2012 |
| 30 (110:5) | C | 2012 |
| 31 (112:1) | C | 2012 |
| 32 (112:2) | C | 2012 |