

Riskvärdering för spridning av salmonella och VTEC O157 till foder och bete via spridning av gödsel från känt smittade besättningar

September 2015

Slutrapport för projektet:
Riskvärdering för spridning av salmonella och VTEC via gödsel från smittade besättningar, Dnr 977/2013

Projektledare: Josefine Elving
Avdelning för kemi, miljö och fodersäkerhet

Projektgrupp: Ann Högberg
Avdelning för kemi, miljö och fodersäkerhet

Catrin Vesterlund-Carlson
Avdelning för epidemiologi och sjukdomskontroll

Cecilia Hultén
Avdelning för epidemiologi och sjukdomskontroll

Kaisa Sörén
Avdelning för epidemiologi och sjukdomskontroll

Projektets slutrapport har även granskats av Ann Albihn, Magnus Thelander, Richard Davidsson (Avdelning för kemi, miljö och fodersäkerhet) och Marianne Elvander (Avdelning för epidemiologi och sjukdomskontroll).



besöksadress: Ulls väg 2B **adress.** 751 89 Uppsala **telefon.** +46 18 67 40 00
fax. 018 30 91 62 **e-post.** sva@sva.se **webb.** www.sva.se

Sammanfattning

Djur som bär på salmonella eller VTEC O157 utsöndrar dessa bakterier i sin träck. Efter spridning av gödsel från smittade besättningar till odlingsmark kan patogenerna överleva i jorden, där de kan förorena grödor och på så vis spridas till foder. I vilken grad en sådan förorening förekommer beror av ett stort antal faktorer så som hur många djur som är smittade i besättningen, utsöndringsnivåer, överlevnad i gödsel och mark samt överlevnad vid processning av foder.

I rapporten presenteras en kvalitativ riskvärdering för spridning av salmonella och VTEC O157 till foder och bete via spridning av gödsel från känt smittade besättningar. I riskvärderingen preciseras frågeställningen till *"Hur stor är sannolikheten att ett djur (nötkreatur eller gris) under ett dygn exponeras för en infektiös dos av salmonella eller VTEC O157 via foder till följd av att flytgödsel från en känt salmonella- eller VTEC O157-smittad besättning sprids på odlingsmark som används för odling innevarande växtsäsong?"* Riskvärderingen innefattar inte någon värdering av konsekvenserna av exponering.

Med dagens kunskapsläge och under de antaganden som gjorts i värderingen, bedöms sannolikheten för att nötkreatur eller gris exponeras för en infektiös dos av salmonella eller VTEC O157 via foder till följd av att flytgödsel från en känt salmonella- eller VTEC-smittad besättning (nötkreatur och gris) sprids på odlingsmark som försumbar från värmebehandlad spannmål och ensilage (vall och majs). Värmebehandling och ensilering bedöms vara goda barriärer mot smittspridning och bidrar därför till en låg osäkerhetsnivå i bedömningen. För gårdsproducerad spannmål bedöms sannolikheten för exponering som mycket låg och för bete på återväxt av vall som låg. Osäkerheten i båda dessa bedömningar är medelhög till följd av såväl bristande dataunderlag som naturlig variation.

Ett grundläggande antagande är att de rekommendationer och riktlinjer som finns för gödselspridning, skörd och hantering av foder följs. Utifrån detta antagande har riskfaktorer som kan förändra bedömningen identifierats. Bland dessa återfinns både riskfaktorer kopplade till management och naturliga skeenden.

Definitioner och förkortningar

Barriär	Process som aktivt reducerar mängden patogener i ett material t.ex. värmebehandling.
CFU	Koloniformande enhet (Colony Forming Unit). Enheten används för att beskriva antal bakterier.
D-värde	Tid för att uppnå 1 log ₁₀ (90 %) reduktion av en mikroorganism.
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
Gårdsproducerad spannmål	Spannmål producerad på samma gård som det används och som ej genomgått värmebehandling utan torkas och lagras på gården.
Inkorporering	Plöjning eller nedmyllning av gödsel i mark.
Internalisering	Upptag av bakterier i grödor.
Predation	Process där protozoer ”äter upp” bakterier.
Semikontinuerlig lagring	Lagring där ny gödsel tillförs gödselbrunnen dagligen.
TS- halt	Torrsubstanshalt
VBNC	Levnadsdugliga men ej odlingsbara (Viable but nonculturable). Ett stadie där bakterier inte är odlingsbara då deras metabola aktivitet är mycket låg och ingen delning sker. Dock är de fortfarande levande och har förmågan att återgå till ett odlingsbart stadie.
Verotoxin	Ett toxin som bildas av vissa <i>E. coli</i> stammar, även kallade shigatoxin.
VTEC	Verotoxinproducerande <i>E. coli</i> .

Innehållsförteckning

1. Syfte.....	1
1.1. Riskfråga.....	1
1.2 Avgränsningar	1
2. Bakgrund.....	1
2.1. Smittor i kretslopp	1
2.2. Salmonella och VTEC i Sverige.....	2
2.2.1. Salmonella.....	2
2.2.2. VTEC.....	2
2.3. Råd och rekommendationer för gödselspridning	2
2.3.1. Gällande råd för spridning av gödsel från känt salmonellasmittade besättningar	3
2.4. Foderproduktion i Sverige	3
2.4.1. Vall och majs	3
2.4.2. Spannmål	4
3. Metoder.....	5
3.1. Användning av indikatororganismer	5
3.2. Terminologi	7
4. Faroidentifiering och farokarakterisering	7
4.1. Salmonella	7
4.1.1. Förekomst i svenska djurbesättningar.....	7
4.1.2. Sjukdomsbild hos nötkreatur och gris	9
4.1.3. Infektionsdos.....	9
4.2. Verotoxinbildande <i>Escherichia coli</i> (VTEC).....	9
4.2.1. Förekomst i svenska nötkreatursbesättningar.....	9
4.2.2. Sjukdomsbild hos nötkreatur	10
4.2.3. Infektionsdos nötkreatur	10
4.3. Salmonella och VTEC O157 i foder.....	10
4.4. Parametrar av betydelse för tillväxt, överlevnad och reduktion av mikroorganismer.....	10
5. Exponeringsuppskattning.....	11
5.1. Svar på specifika frågor	12
5.2. Exponering av nötkreatur och gris.....	19
5.2.1. Ensilage av vall.....	19
5.2.2. Bete på vall.....	20
5.2.3. Majsensilage.....	20
5.2.4. Gårdsproducerad spannmål	20
5.2.1. Värmebehandlad spannmål	21
6. Riskkarakterisering.....	21
6.1. Sammanfattande kommentarer rörande osäkerhet i bedömningen	22

6.1.1.	Dataunderlag	22
6.1.2.	Naturlig variation.....	22
6.1.3.	Val av detektionsmetod	22
6.2.	Riskfaktorer.....	23
6.3.	Kunskapsluckor.....	24
7.	Referenser.....	25

1. Syfte

Syftet med projektet har varit att genomföra en kvalitativ riskvärdering som stöd för arbetet med att ta fram ett underlag för uppdatering av rekommendationer rörande hantering av gödsel från salmonella- och VTEC O157-smittade besättningar.

1.1. RISKFRÅGA

Riskvärderingen ska besvara riskfrågan:

Hur stor är sannolikheten att ett djur (nötkreatur eller gris) under ett dygn exponeras för en infektiös dos av salmonella eller VTEC O157 via foder till följd av att flytgödsel från en känt salmonella- eller VTEC O157-smittad besättning sprids på odlingsmark som används för odling innevarande växtsäsong?

Riskfrågan har utarbetats i samråd med Jordbruksverket (SJV) och baseras på:

- SJV:s utkast till "Begäran om riskvärdering och yttrande angående hantering av gödsel och rötrest från besättningar med gris eller nötkreatur med okänd smittstatus, eller med konstaterad salmonellasmitta eller smitta med humanpatogen VTEC" (inkommen till SVA 2012-05-02),
- SVA:s yttrande "Beskrivning av kunskapsläge avseende risk för smittspridning av Salmonella och VTEC från gödsel respektive rötrest från gårdsanläggningar" Dnr 2012/566,
- SJV:s remiss "Värdering av risk att sprida Salmonella och VTEC via gödsel från eller inom smittade besättningar",
- SVA:s ansökan om medel ur anslag 1:6, anslagspost 2 "Riskvärdering för spridning av Salmonella och VTEC via gödsel från smittade besättningar".

1.2 AVGRÄNSNINGAR

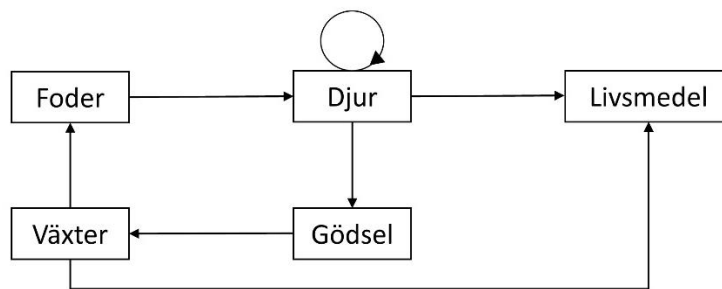
Riskvärderingen inkluderar:

- enbart ensilage av vall och majs, bete på återväxt av vall, gårdsproducerad spannmål samt spannmål värmebehandlad i foderfabrik och ej andra råvaror och foderprodukter så som ärter, hösilage och halm.
- nötkreatur på bete, ej utegrisar.

2. Bakgrund

2.1. SMITTOR I KRETSLOPP

Spridning av gödsel till odlingsmark introducerar en smittväg för spridning av patogena bakterier från smittade besättningar till miljön och sedan eventuellt vidare in i foder och livsmedel. I en besättning smittad med salmonella eller VTEC O157 kan stora mängder av patogenerna utsöndras från enskilda individer i besättningen. Smittan kan spridas direkt från djur till djur och från djur till människor, men även till växter som används till foder och livsmedel genom spridning av gödsel på åkermark (Figur 1).



Figur 1. Schematisk skiss av kopplingen gödsel och smittspridning.

2.2. SALMONELLA OCH VTEC I SVERIGE

2.2.1. Salmonella

Kontroll av salmonella i foder och hos djur påbörjades redan på 1950-talet till följd av ”Alvestautbrottet” som orsakade 9 000 sjukdomsfall och 90 dödsfall hos människa. Salmonellainfektion är anmälningspliktig hos både människor och djur och hos djur hanteras salmonellabekämpning i besättningar av Jordbruksverket med stöd av zoonoslagen. Jordbruksverket ansvarar också för foderkontrollen och kontroll och övervakning av salmonella hos djur. Konstaterat smittade nöt- och grisbesättningar beläggs med restriktioner (spärr) som bl.a. omfattar djurförflyttningar och gödselhantering och besättningen saneras dessutom under restriktionstiden. Bekämpnings- och hygienarbetet i besättningen kan se olika ut beroende på djurslag och produktionsform. Sedan 2013 finns ett myndighetsgemensamt nationellt strategidokument för infektion med salmonella.

2.2.2. VTEC

De första svenska VTEC-utbrotten hos människa rapporterades 1995 och infektion med VTEC O157 har varit anmälningspliktig sedan 1996. Sedan 2004 gäller anmälningsplikten för alla serotyper av VTEC. Hos djur blev infektion med VTEC O157 också anmälningspliktig 1996 och 2002 ändrades anmälningsplikten till att omfatta alla serotyper av VTEC med epidemiologisk koppling till humanfall. Anmälningsplikten utvidgades dessutom 2012 till att omfatta alla fynd av VTEC O157:H7 av klad 8 (en subtyp förknippad med allvarlig sjukdom hos människa) oavsett hur den påvisas. Provtagning av djurbesättningar utförs framför allt vid misstanke om smitta till människa. Övervakningen hos djur består av passiv övervakning (anmälningsplikt vid epidemiologisk koppling mellan humanfall och djurisolat samt O157:H7 klad 8) och aktiv övervakning (regelbundna prevalensundersökningar). Sedan 1997 har det funnits en myndighetsgemensam handlingspolicy för att hantera förekomst av VTEC och sedan 2014 finns ett myndighetsgemensamt nationellt strategidokument för infektion med EHEC/VTEC.

2.3. RÅD OCH REKOMMENDATIONER FÖR GÖDSELSPRIDNING

De allmänna råd som idag finns gällande tidpunkt för spridning av stallgödsel (fast- och flytgödsel) syftar till att styra spridningen till tidpunkter då grödan bäst kan tillgodogöra sig växtnäringen. Med undantag från nitratkänsliga områden får stallgödsel spridas året om. Under vintern (1 dec – 28 feb) skall dock gödseln brukas ned i jorden inom 12 timmar dvs. blandas in i ett markskikt som är minst 10 cm djupt. (Jordbruksverket, 2013a, Jordbruksverket, 2013b)

Om det är möjligt bör flytgödsel spridas i växande gröda med marknära spridning eller före sådd på våren. Det kan även anses godtagbart med höstspridning inför sådd av oljevaxter eller på gräsdominerad vall.

För spridning av flytgödsel på vall rekommenderas spridning direkt efter första skörden, alternativt tidigt på våren på nattjälad mark. Man bör undvika att sprida fastgödsel på vall, men om spridning ändå måste ske rekommenderas det att sprida fastgödseln efter sista skörden på hösten. (Anon., 2003)

2.3.1. Gällande råd för spridning av gödsel från känt salmonellasmittade besättningar

Gödsel betraktas som infekterad om infekterade djurgrupper bidragit till den, dvs. även om salmonella enbart påvisats i enstaka träckprover.

Den generella rekommendationen idag är att smittad flyt- och fastgödsel får spridas om den omedelbart plöjs ned eller djupmyllas (om markens beskaffenhet tillåter detta) och att man ska undvika att använda marken till bete eller grovfoderskörd under samma växtsäsong annat än i undantagsfall. Om gödseln inte plöjs ner eller djupmyllas ska gödseln hygieniseras före spridning. De rekommenderade hygieniseringsmetoderna är hygienisering genom kompostering av fastgödsel medan flytgödsel behandlas med kalk, ammoniak/urea eller natrium/kalium-hydroxid för att uppnå reduktion av salmonella i gödseln före spridning till odlingsmark. Motsvarande rekommendationer saknas för VTEC-smittade besättningar.

2.4. FODERPRODUKTION I SVERIGE

I Sverige utgör vallfoder och spannmål de största inhemska foderkomponenterna. Vallfoder utgör basen i foderstaten för nötkreatur medan fodret för gris huvudsakligen består av spannmål. Här begränsas resonemanget till att omfatta vall för ensilering och bete, majs för ensilering, gårdsproducerad spannmål samt spannmål som värmebehandlas i foderfabrik.

2.4.1. Vall och majs

Vall

Vallen består av en blandning av olika sorters gräs och baljväxter och skördas vid flera tillfällen per år för ensilering (Pettersson et al., 2009, Belotti, 1990). Efter vallskörd kan nötkreatur släppas att beta på återväxten.

Vid skörd av vall för ensilering rekommenderas en stubbhöjd på 6-8/8-10 cm vid vallskörd (Svensk mjölk, 2003). Vid direktskörd av vallfoder utförs skörd, hackning och lastning oftast i ett moment och med en maskin. Beroende på vilket ensileringssystem som används kan vallgrödan även behöva förtorkas, vilket innebär att man först slår av vallen och sedan låter den ligga kvar på fältet för att torka.

Storbalsensilage är den vanligaste metoden för ensilering av vall i Sverige (Pettersson et al., 2009). Vid ensilering i storbal skördas vallen och förtorkas starkt till en TS-halt på 40-50 %. Materialet hackas inte utan rullas ihop till balar med en storbalspress. Balarna hålls ihop av snören eller nät och lindas därefter in med sträckfilm (Spörndly et al., 1988). Vallfoder som ska ensileras i plan- eller tornsilo hackas oftast med exakthack i samband med lastningen i vagnar för transport till silon. Hackselängden kan varieras från en knapp centimeter till flera centimeter (Svensk mjölk, 2003). Vid ensilering i plansilo eller tornsilo av trä bör TS-halten efter förtorkning vara omkring 30 % och i tornsilo av plåt runt 50 % (Spörndly et al., 1988). Vid direktskörd får ensilaget en betydligt lägre TS-halt, omkring 15-25 %.

Vallgrödor som ensilerats bör tidigast brytas för utfodring efter 3 veckor (Svensk mjölk, 2003).

Majs

Majs skördas för ensilering vid ett tillfälle per år (Eriksson, 1998) med en stubbhöjd på 10-20 cm (Allen et al., 2003, Abrahamsson, 2008). Grödan direktskördas och består av ett helsädesensilage där hela plantan skördas vid en TS-halt på 28-35 % (Allen et al., 2003, Eriksson, 1998). Ingen

förtorkning sker. Majsen skördas med en specialutrustad exakthack som även krossar majs kärnorna (Abrahamsson, 2008). Hackselängden för majs är omkring 1 cm.

Vid inläggning av majs i plansilo är TS-halten 30-35 %, medan TS-halten måste anpassas till silons utformning vid ensilering i tornsilo. (Allen et al., 2003, Savoie and Jofriet, 2003).

Majs bör ensileras under 30 dagar innan utfodring påbörjas (Allen et al., 2003).

Ensileringprocessen

Ensilering innebär att fodret förvaras i en syrefri miljö med lågt pH (Spörndly et al., 1988). Processen kan delas in i fyra faser; aerob fas, syrningsfas, lagringsfas och utfodringsfas. I den aeroba fasen som pågår under några timmar tills allt syre tagit slut, fortsätter cellandningen och nedbrytning av lättlösliga kolhydrater sker. Efter den aeroba fasen följer syrningsfasen som kan pågå i dagar till månader. Mjölksyrabakterier växer då till på lättlösliga kolhydrater och bildar mjölksyra som sänker pH-värdet i ensilaget. När pH-värdet har stabiliserat sig på en tillräckligt låg nivå följer lagringsfasen som pågår i veckor upp till år. Utfodringsfasen börjar när silon bryts för att utfodra djuren (Driehuis and Dude Elferink, 2000).

Kombinationen av syrefri miljö och lågt pH gör att tillväxt av jäst- och mögelsvampar samt skadliga bakterier hämmas. När silon öppnas för utfodring kommer syre åter i kontakt med ensilaget, vilket kan leda till tillväxt av jäst- och mögelsvampar samt skadliga bakterier. För att begränsa den skadliga effekten av syre på ensilagekvaliteten är det därför viktigt att följa rekommendationerna gällande dagligt uttag av ensilage för respektive ensileringssystem. I en plansilo bör uttaget vara minst 30 cm per dag och i en tornsilo bör uttaget uppgå till minst 5 cm per dag (Svensk mjölk, 2003).

Vid dåliga skördeförhållanden när TS-halten är lägre än 40 % kan tillsatsmedel användas för att underlätta den spontana ensileringprocessen. Användning av tillsatsmedel är dock ingen garanti för en lyckad ensilering och kan inte kompensera för dålig kvalitet eller bristfälliga rutiner vid ensilering (Spörndly et al., 1988, Trioplast, 1995). Genom att tillföra s.k. fermentationsstimulerande tillsatsmedel såsom önskvärda bakterier i form av mjölksyrabakterier eller näring i form av lättlösliga kolhydrater (t.ex. betmelass, betför, spannmålskross eller vassle) kan fermentationsprocessen och tillväxt av mjölksyrabakterier främjas. För att minska eller totalt hämma oönskad mikrobiell tillväxt används s.k. fermentationshämmande tillsatsmedel som exempelvis myrsyra/myrsyrablandningar eller salter av organiska och oorganiska syror.

2.4.2. Spannmål

Spannmål skördas i slutet av sommaren med avsevärt högre stubbhöjd än vall. Vid skörd separeras kornen från strå och agnar.

En betydande andel av det spannmålsbaserade fodret som används idag produceras på samma gård där det utfodras. Efter skörd transporteras spannmålen till gården där torkningen bör påbörjas så snart som möjligt efter skörd. Vid torkning av spannmål tillförs luft i syfte att torka spannmålen. En vattenhalt av 13-14 % utgör goda förutsättningar för lagring av spannmål (LRF, 2013, Jones, 2011, Eisenberg, 2007).

I foderfabriken mals spannmål och blandas enligt ett fördefinierat recept med andra foderråvaror. Malning av spannmål sker i rumstemperatur. I Sverige är större delen av det fabriksproducerade fodret värmebehandlat. Vid värmebehandling av foder hålls en temperatur av $>75^{\circ}\text{C}$, vanligen under 0,5 minuter i en s.k. konditionör, men i nyare anläggningar kan tiden vara upp mot 2-3 minuter. Temperaturen ökar därefter något i pelletspressen varefter det pelleterade fodret kyls ner till omgivningstemperaturen i kyltornet.

Kommersiella tillverkare av foder tar, i enlighet med föreskrifterna, varje vecka ut salmonellaprov på kritiska punkter längs tillverkningslinjen i fabriken, vilket bygger på HACCP-principerna. Utöver dessa lagstiftade prover kan fodertillverkaren ta ytterligare prover i anläggningen för att säkerställa att fodret inte innehåller salmonella.

3. Metoder

En riskanalys består av tre moment; riskvärdering, riskhantering och riskkommunikation. Riskvärderingen, som kan vara kvalitativ eller kvantitativ, är ett verktyg som syftar till att tjäna som ett stöd för beslutsfattare vid riskhantering. En kvalitativ riskvärdering ger en grundläggande förståelse för problematiken och kan i många fall vara ett tillräckligt underlag för hantering. I vissa fall, då tillräckliga data finns tillgängliga, kan en kvantitativ riskvärdering ge ytterligare beslutsunderlag.

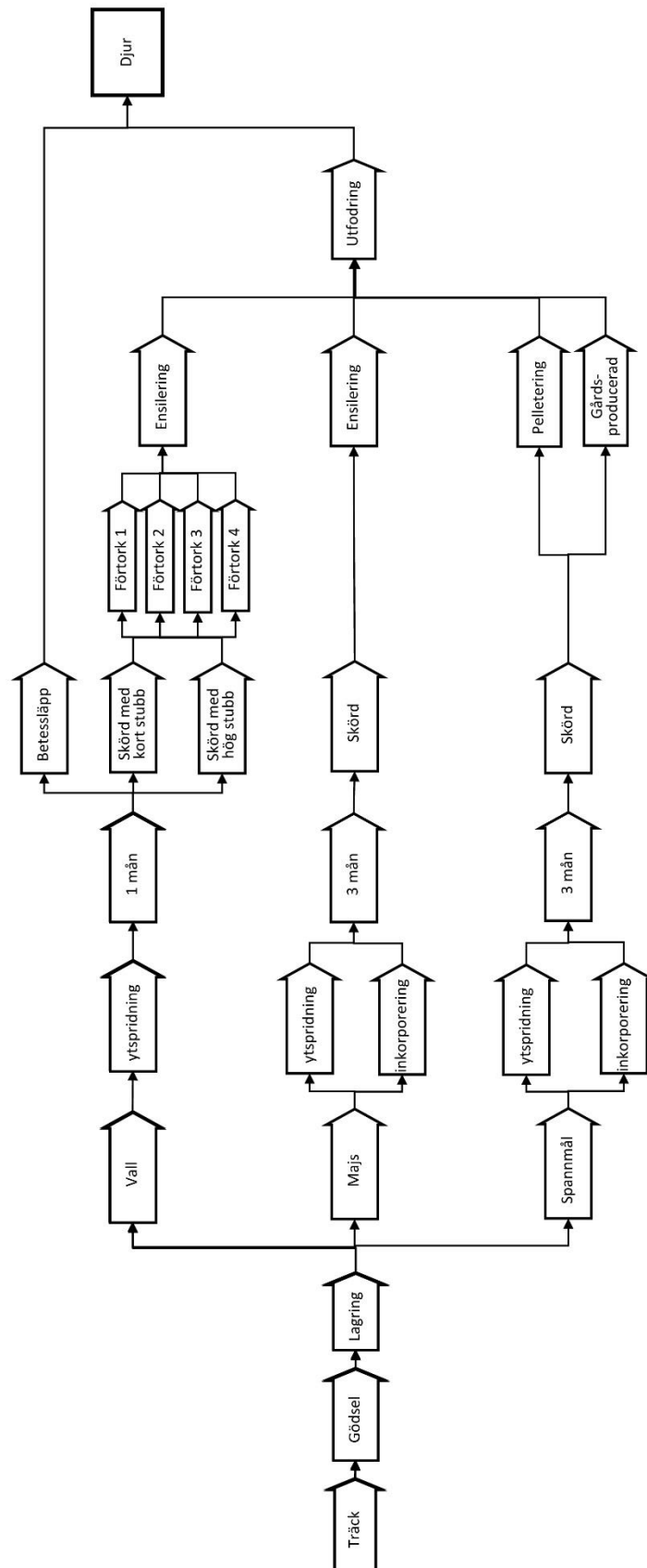
Vid bedömning av risken för smittspridning från gödsel till foderbord krävs tillgång till en stor mängd olika data för att kunna förutse patogeners öde och bedöma den risk de utgör för djur vid intag av foder. För att uppskatta mängden av en patogen som intas via foder krävs bl.a. kunskap om prevalensen inom besättningen samt mängden patogener som utsöndras från infekterade djur. Vidare krävs kunskaper om de förändringar i antal som patogenerna genomgår på sin väg till foderbordet dvs. vad som händer från utsöndring fram till dess att fodret intas av ett djur. Det senare är beroende av exempelvis tid mellan utsöndring och konsumtion, potential för tillväxt och effekt av behandlingsprocesser.

Den aktuella riskvärderingen är kvalitativ och följer riktlinjerna i Codex Alimentarius (WHO, 2007). I rapporten ingår "Faroidentifiering", "Farokarakterisering", "Exponeringsuppskattning" och "Riskkarakterisering" enligt Codex riktlinjer. Rapporten innefattar en bedömning av sannolikheten för smitta men innefattar inte någon värdering av konsekvenserna av smitta.

Bedömningen av mikroorganismernas överlevnad baserar sig på att varje steg i spridningsvägen ses som en modul (Figur 2). Med stöd av tillgänglig fakta görs antaganden som i sin tur styr den bild av verkligheten som riskmodellen utgör. Det grundläggande antagandet som görs för exponeringsuppskattningen är att ingen tillväxt sker i någon av modulerna i spridningsvägen, att gällande rekommendationer för spridning av gödsel och hantering av foderråvaror följs samt att inga driftstörningar vid behandling av grödorna förekommer. Ändras antaganden eller verkligheten, t.ex. att prevalensen av salmonella höjs betydligt, kan detta ge stor effekt på resultatet av riskvärderingen. Osäkerheten i riskvärderingens resultat speglar både naturlig variation och osäkerhet som har sitt ursprung i kunskapsunderlaget, dvs. bristen på kunskap om hur verkligheten förhåller sig.

3.1. ANVÄNDNING AV INDIKATORORGANISMER

Både salmonella, VTEC och apatogena *E. coli* tillhör familjen *Enterobacteriaceae* och uppvisar ett liknande mönster när det gäller överlevnad och reduktion (Natvig et al., 2002). *E. coli* används därför ofta som indikatororganism grundat på antagandet att dess beteende är liknande det hos patogenerna. I de fall där det saknas tillräckligt underlag för att bedöma sannolikheten utifrån data tillgängliga för salmonella eller VTEC O157 används därför data för apatogena *E. coli*.



Figur 2. Schematisk skiss av modulerna i de exponeringsscenarier som behandlas i exponeringsuppskattningen.

3.2. TERMINOLOGI

Terminologin för sannolikheter i riskbedömningen:

Försumbar	Så ovanligt att det saknar betydelse
Mycket låg	Mycket ovanligt, men kan inte uteslutas
Låg	Sällan, men förekommer
Medelhög	Förekommer ibland
Hög	Förekommer ofta
Mycket hög	Förekommer nästan säkert

Terminologi rörande osäkerhetsnivå vid bedömningen:

Låg	Solida och kompletta data tillgängliga Starka bevis från flera referenser Flera författare rapporterar liknande
Medium	En del men inte kompletta data tillgängliga Bevis från enstaka referenser Författare rapporterar olika slutsatser
Hög	Knapphändiga eller inga data tillgängliga Bevis hämtas inte från vetenskapliga referenser utan snarare från opublicerade rapporter, observationer eller personliga meddelanden Författare rapporterar slutsatser som avsevärt skiljer sig från varandra

4. Faroidentifiering och farokarakterisering

Spridning av gödsel från salmonella- och VTEC-positiva besättningar kan utgöra en risk för kontamination av fodergrödor och vidare smitta till djur vid bete eller utfodring.

4.1. SALMONELLA

Salmonella är en gramnegativ stavformad tarmbakterie som tillhör familjen *Enterobacteriaceae*. Det finns två arter, *S. enterica* och *S. bongori* och över 2500 serotyper. De flesta serotyperna kan infektera både människor och djur, men några serotyper är särskilt anpassade till vissa djurslag. Exempelvis är *S. Dublin* anpassad till nötkreatur och *S. Derby* till gris. Hos människa kan infektion leda till sjukdomssymtom såsom diarré, illamående, feber och ibland kräkningar. Infektionsdosen är relativt hög och små barn, äldre samt immunsvaga är mer mottagliga för infektion.

Bakterien tillväxer vanligen i aeroba miljöer, men tillväxt kan ske även i anaeroba miljöer. Tillväxt kan ske i ett brett temperaturintervall och i ett relativt brett pH-intervall, samtidigt som bakterien tål både kyla och uttorkning.

4.1.1. Förekomst i svenska djurbesättningar

Ur ett internationellt perspektiv har Sverige ett gott salmonellaläge och varje år registreras endast ett litet antal nysmittade besättningar. *S. Dublin* och *S. Typhimurium* är de två vanligast förekommande typerna av salmonella hos nötkreatur. Vid upptäckt av salmonella i svenska grisbesättningar har *S. Typhimurium* dominerat under senare år. Undantaget är vid det utbrott som 2003 orsakades av foder kontaminerat med *S. Cubana*.

Besättningsprevalens

Prevalensen salmonellasmittade grisbesättningar i Sverige uppskattades i EU:s baslinjestudier från 2007/2008 till 1,3 % i avelsbesättningar och 0 % i slaktsvinsbesättningar och antalet besättningar

som upptäckts genom salmonellakontrollprogrammet har sedan foderutbrottet 2003 varierat mellan 0 och 10 per år (EFSA, 2011, SVA, 2014).

Med den nuvarande övervakningen upptäckts i genomsnitt knappt tio smittade nötkreatursbesättningar årligen. Våren 2013 genomfördes en tankmjölksundersökning i landets samtliga mjölkproducerande besättningar. I den framkom att ca 3 % (142 st) av besättningarna hade en antikroppsreaktion (vid användande av *S. Mixed*-ELISA analys) som tydde på pågående/nyss genomgången salmonellainfektion. För andra typer av nötkreatursbesättningar finns inga motsvarande undersökningar.

Inombesättningsprevalens

Prevalensen salmonellasmittade odlingspositiva individer i en grisbesättning som konstaterats salmonellainficerad kan variera kraftigt från besättning till besättning och också mellan grupper av djur i samma besättning. Ofta kan man inte fastställa när i infektionsförloppet den initiala provtagningen sker och det är troligt att prevalensen varierar under infektionsförloppet i besättningen (Österberg 2010). I en genomgång av 16 svenska besättningar provtagna från september 2009 till december 2011 bedömdes tre ha hög prevalens, tre låg eller mycket låg, tre varierande mellan grupper och sju besättningar var negativa (SVA, 2011).

Även i konstaterat salmonellasmittade nötkreatursbesättningar kan prevalensen salmonellasmittade odlingspositiva djur variera kraftigt mellan olika besättningar och grupper. I en dansk studie med 14 *S. Dublin*-inficerade mjölkbesättningar var prevalensen bakteriepositiva djur (samtliga åldrar) 0,3 -2,8 %. Det framgick också att ju yngre djuren var desto större var risken att de utsöndrade bakterier, medelvärden för ungdjur (fyra riskkategorigrupper) var 1,5 – 6 % och för vuxna 2 % (Rosenbaum Nielsen, 2012). I ett svenskt material från *S. Dublin*-inficerade besättningar såg man att i medel 8,2 % av prover tagna från kalvar, 0,7 % från ungdjur och 2,4 % från vuxna var salmonellapositiva.

Avseende andra serotyper än *S. Dublin* finns ännu mer knapphändiga uppgifter. I en sammanställning av resultaten i fem svenska *S. Typhimurium*-inficerade besättningar sågs att andelen odlingspositiva kalvar var 27 %, ungdjur 0 % och vuxna djur 0-12 %. I denna sammanställning ingick endast enstaka grupper med djur, varför särskilt kalvarnas och ungdjurens prevalenser är mycket osäkra.

Alla dessa prevalenser får betraktas som osäkra också eftersom de bara visar andelen salmonellapositiva prover. Många av dessa prover är dessutom poolade, d v s består av 2- 5 individprover. Sensitiviteten för sådana prover är låg och har i en dansk studie uppskattats till 6 – 14 % (Rosenbaum Nielsen, 2003). Detta skulle kunna innebära att prevalensen i själva verket är betydligt högre.

Utsöndring av salmonella

Studier har visat på utsöndringsnivåer av 10^2 - 10^8 CFU/g för salmonella bland nötkreatur och gris (Hutchison et al., 2005a, Wallis, 2006, Kirk, 2011, Barrow and Methner, 2013). Österberg et al visade i experimentella studier med flera olika serotyper att utsöndring av salmonella är beroende av infektionsdosen och att man efter en hög infektionsdos kan se både kontinuerlig utsöndring under en längre tid och kontinuerlig utsöndring under ett par veckor och därefter intermittent utsöndring.

Ett nötkreatur infekterat med *S. Dublin* utsöndrar oftast salmonellabakterier i 1 – 3 veckor efter infektionstillfället, men utsöndring i upp till två månader har också beskrivits. En liten andel av djuren anses kunna bli symtomlösa smittbärare, som kan utsöndra små mängder ($1\cdot 10^4$) vid

reaktivering av smittan eller ha en konstant eller intermitterent utsöndring likt den vid akut infektion i flera månader till ett år. (Rosenbaum Nielsen, 2013)

4.1.2. Sjukdomsbild hos nötkreatur och gris

Salmonella kan orsaka varierande grad av sjukdom beroende på djurslag och symtomen varierar beroende på individens immunstatus, infektionsdos och serotyp. Kliniska symtom, såsom diarré, kastningar, sänkt foderlust samt ökad kalvsjuklighet och -dödlighet, kan ses i nötkreatur, medan salmonellasmitta i grisbesättningar i de allra flesta fall förlöper utan kliniska symtom. Djur som tillfrisknat från klinisk salmonellainfektion, liksom symtomlösa smittbärare, utsöndrar ofta salmonellabakterier intermitterent i träcken en tid, vilket vanligen handlar om några veckor.

4.1.3. Infektionsdos

Infektionsdosen för salmonella är relativt hög. Litteraturen presenterar infektionsdoser i intervallet 10^4 - 10^{13} bakterier för nötkreatur (Aceto et al., 2011, Snider et al., 2014) och 10^6 - 10^9 bakterier för gris (Barrow and Methner, 2013, Österberg, 2010).

4.2. VEROTOXINBILDANDE *ESCHERICHIA COLI* (VTEC)

Escherichia coli (*E. coli*) är en tarmbakterie som normalt förekommer hos de flesta varmblodiga djurarter och människor. VTEC skiljer sig från övriga *E. coli* genom att de kan producera verotoxin som bidrar till bakteriens patogenicitet. VTEC är en zoonos som kan orsaka allvarlig sjukdom hos människa (Mead and Griffin, 1998). Sjukdomsbilden karakteriseras av blodiga diarréer och buksmärter. I minst 5-10 % av fallen kompliceras den akuta infektionen med hemolytiskt uremiskt syndrom (HUS), med bl.a. nedsatt njurfunktion som följd. I sällsynta fall orsakar sjukdomen dödsfall. Infektionsdosen är mycket låg och särskilt små barn och äldre är känsliga.

Det är framförallt idisslare, vanligen nötkreatur, men även får och getter, som är bärare av VTEC och kan fungera som reservoar för bakterien. Dock är det endast en liten andel av de VTEC-serotyper som återfinns hos nötkreatur som orsakar sjukdom hos människor (Blanco et al., 1996, Law, 2000). Internationellt är VTEC O157 den serotyp som oftast har isolerats från utbrott och allvarliga sjukdomsfall hos människor (Karmali et al., 2003) varför rapporten fokuserar på denna serotyp.

Generellt rapporteras *E. coli* kunna tillväxa ned till en vattenaktivitet av $0,935 a_w$, i ett temperaturintervall av 2,5-45 °C och vid pH mellan 4,7-9,5 (Mitscherlich and Marth, 1984). När det gäller överlevnad anses serotyper som orsakar sjukdom, så som O157, inte skilja sig avsevärt från vanlig *E. coli* (Durso et al., 2004).

4.2.1. Förekomst i svenska nötkreatursbesättningar

De flesta svenska studier kring förekomst av VTEC bland nötkreatur har varit inriktade på serotypen O157. Utöver det finns några få studier på serotyperna O26, O103 och O121. Många av studierna har undersökt förekomsten av VTEC i träck från slaktkroppar, s.k. slakteriprevalensstudier. Dessa ger dock inte information om besättningsprevalens eller inombesättningsprevalens.

Besättningsprevalens

Under perioden 1998–2000 undersöktes träckprover från 371 mjölkbesättningar och VTEC O157 kunde påvisas på 33 gårdar (9 %) (Eriksson et al., 2005). Resultaten visar på stora regionala skillnader, med högst förekomst av positiva besättningar i Halland med 23 %. I övriga regioner i södra Sverige var förekomsten 3–10 %. Inga besättningar från Norrland var positiva.

Inombesättningsprevalens

Det finns inga svenska studier där förekomsten av VTEC på individnivå i en infekterad besättning undersökts. I en studie av Widgren et al. (2013) samlades individuella prover in från djur i 31 mjölkbesättningar, men proverna poolades (poolstorlek = 3) på laboratoriet innan analys. Poolprevalensen av VTEC O157 varierade i denna studie mellan 0 och 57 %.

Utsöndring av VTEC O157

De flesta infekterade nötkreatur utsöndrar VTEC O157 i avföringen i låga halter och det är oftast yngre djur som är infekterade (Boqvist et al., 2009, Strachan et al., 2001, Ogden et al., 2004). Studier har dock visat att det kan förekomma en liten andel djur som kan definieras som s.k. högutsöndrare. De bedöms utgöra störst risk för humansmitta, eftersom de utsöndrar bakterien i mycket höga halter (Chase-Topping et al., 2008). I en experimentell studie där unga kalvar infekterats med 100-11 000 CFU VTEC O157 varierade utsöndringen i avföringen från <30 till >10⁶ CFU/g (Besser et al., 2001).

4.2.2. Sjukdomsbild hos nötkreatur

Nötkreatur är symtomfria bärare av VTEC.

4.2.3. Infektionsdos nötkreatur

I experimentella studier har infektionsdosen för VTEC O157 visats kunna vara så låg som 210 bakterier på kalvar (Besser et al., 2001). Cray och Moon (1995) visade att inga vuxna djur blev infekterade då de exponerades för en dos på 10⁴ bakterier, medan två av fem djur exponerade för 10⁷ bakterier blev infekterade.

4.3. SALMONELLA OCH VTEC O157 I FODER

Kontamination av fabriksstillverkat foder med salmonella kan ge upphov till stor spridning, exempel på detta är det foderrelaterade utbrottet med *S. Cubana* 2003 där 49 besättningar infekterades av kontaminerat foder till följd av bristande tillverkningsrutiner. VTEC O157 påträffas sällan i foder. Trots detta indikerar flera internationella studier att foder skulle kunna vara en källa till VTEC O157 hos nötkreatur (Dodd et al., 2003, Sargeant et al., 2004, Dargatz et al., 2005). Studier har även visat på att tillväxt av *E. coli* O157 (icke verotoxinproducerande *E. coli*, dvs apatogen) kan förekomma i foder med tillräcklig hög vattenhalt (Lynn et al., 1998, Fenlon and Wilson, 2000) samt att viss överlevnad förekommer vid värmebehandling vid höga nivåer av bakterien i råvaran (Hutchison et al., 2007).

Data rörande förekomst av salmonella och VTEC O157 i gårdsproducerad spannmål är bristfällig. SVA genomförde 2013 en studie för att undersöka om salmonella och VTEC O157 förekommer i gårdslagrat foder- och strömedel. Foder- och miljöprover togs på 40 gårdar (nötkreatur och gris) i områden med intensiv animalieproduktion. Endast ett miljöprov från en av grsigårdarna som inte tidigare haft salmonella var salmonellapositivt. Övriga prover från såväl grsigårdar som nötkreatursgårdar var negativa. I importerade foderråvaror är dock salmonellakontamination vanligt förekommande. Under perioden 2004–2005 detekterades t.ex. salmonella i 14,6 % av det sojamjöl som importerades från Sydamerika till Sverige (Wierup, 2006).

4.4. PARAMETRAR AV BETYDELSE FÖR TILLVÄXT, ÖVERLEVAD OCH REDUKTION AV MIKROORGANISMER

Överlevnad, tillväxt och reduktion av fekala bakterier i olika material påverkas av en stor mängd olika faktorer såsom temperatur, pH, UV-ljus, fukthalt, näringstillgång, syretillgång och jordens beskaffenhet, förekomst av organiska och inorganiska föreningar, konkurrens, predation och internalisering i grödor (Recorbet et al., 1992, Kerry, 2000, Chandler and Craven, 1980, Yaun et al., 2004, Yaun et al., 2003, Jiang et al., 2002, Brandl et al., 2005, Franz et al., 2005). Några av dessa beskrivs närmare nedan.

Temperatur och pH

Salmonella och VTEC O157 antas generellt överleva bättre vid låga temperaturer än vid höga (Ogden et al., 2001, Gagliardi and Karns, 2002, Islam et al., 2004c). Dock finns en viss variation i litteraturen och studier där det omvända förhållandet råder finns (Jiang et al., 2002, Mukherjee et al., 2006). Reduktionshastigheten för salmonella och VTEC O157 vid höga temperaturer är främst en funktion av tid och temperatur och bakterierna dör snabbt vid höga temperaturer t.ex. vid termofil behandling av gödsel (>55 °C) eller pelletering (>70 °C) (Elving et al., 2014, Ceustermans et al., 2007, Tiquia et al., 1998, Sahlström, 2003). Vid lägre temperaturer krävs längre uppehållstider för att uppnå en god reduktion (Sahlström, 2003, Tiquia et al., 1998).

Många mikroorganismer är anpassade till neutralt pH, därmed minskar deras förmåga att överleva vid höga och låga pH.

Fuktbalt

Generellt krävs fukt för överlevnad av mikroorganismer och uttorkning bidrar till en ökad reduktion (O'Callaghan et al., 2001). Mikroorganismer är inte beroende av den totala mängden vatten i ett material utan hur tillgängligt vattnet är, dvs. vattenaktiviteten (a_w). Med ökad koncentration ämnen, så som salter och sockerarter, i vattnet minskar vattenaktiviteten. Optimum för tillväxt av bakterier varierar och tillväxten hämmas vid lägre vattenaktivitet.

Näringsstillgång, konkurrens och predation

Med tillgång till näringsämnen och om andra förhållanden är fördelaktiga kan bakterier föröka sig i miljön (Lang and Smith, 2008, Ceustermans et al., 2007). En aktiv markflora av bakterier bidrar till en kortare överlevnad av salmonella och VTEC O157 i miljön (Sidhu et al., 2001, Franz et al., 2005).

Studier har visat att en ökning av antalet protozoer i gödslad jord leder till en minskning av salmonella (Garcia et al., 2010). Överlevnad av patogener inuti intracellulära vesiklar hos protozoer kan leda till att antalet bakterier underskattas då de inte detekteras med traditionella odlingsmetoder (Gourabathini et al., 2008, Garcia et al., 2010).

Internalisering i gröda

Internalisering kan skydda mikroorganismer från påfrestningar från yttre miljöfaktorer (Beattie and Lindow, 1999). De flesta humanpatogener kan inte tränga in i växtceller men kan ta sig in i växtens inre genom naturliga öppningar t.ex. klyvöppningar, blommor, groddens rötter eller sidorötter (Lapidot and Yaron, 2009, Warriner et al., 2003, Hora et al., 2005).

5. Exponeringsuppskattning

Figur 2 sammanfattar spridningsvägarna definierade utifrån riskfrågan. Faktorer som tagits i beaktande är spridning till och överlevnad i jord/mark, växande gröda och foderprodukter. I spridningsvägarna återfinns flera barriärer för spridning av patogener; lagring av gödsel, tid mellan spridning av gödsel och skörd samt processning av grödor. Dessa barriärer tjänar till att minska risken för att patogenerna sprids från smittad gödsel till foder.

För att förenkla arbetet med att bedöma sannolikheten bröts riskfrågan ner i en rad frågor baserat på de identifierade spridningsvägarna. Dessa frågor bröts ner ytterligare i underfrågor. För varje fråga/underfråga samlades ett underlag för bedömning in. Den kompletta listan med frågor/underfrågor återfinns i Tabell 1.

Tabell 1. Frågor och underfrågor/delfrågor utifrån de identifierade scenarierna i Figur 2 fram till utfodringstillfället.

-
1. Vilken är sannolikheten att salmonella och VTEC O157 finns i flytgödseln från en smittad besättning?
 - a. Vilken är den genomsnittliga inombesättningsprevalensen i smittade besättningar?
 - b. Vilken är den genomsnittliga utsöndringsgraden för patogenerna?
 - c. Hur mycket späds träck ut i gödselbrunnen?
 2. Vilken är sannolikheten att salmonella eller VTEC O157 tillförs jorden/marken vid spridning av semikontinuerligt lagrad flytgödsel från en smittad besättning?
 - a. Hur påverkas mängden av patogenerna vid lagring i gödselbrunnen?
 - b. Hur stor mängd flytgödsel sprids per ytenhet odlingsmark?
 3. Vilken är sannolikheten att salmonella och VTEC O157 finns kvar på/i jorden eller grödan vid skörd/betessläpp?
 - a. Hur påverkas överlevnad av patogenerna av spridningsteknik?
 - i. Ytspridning
 - ii. Bredspridning och inkorporering
 - b. Hur påverkar tiden mellan gödsling och skörd/betessläpp överlevnaden av patogenerna?
 - i. Överlevnad på/i gröda
 - ii. Överlevnad på/i mark
 4. Vilken är sannolikheten att en gröda kontamineras i samband med skörd?
 - a. Hur påverkas kontaminationsgraden av stubbhöjden?
 - b. Hur påverkas kontaminationsgraden av val av förtorkningsstrategi?
 5. Vilken är sannolikheten att salmonella och VTEC O157 överlever torkning och lagring av spannmål?
 - a. Hur påverkas överlevnaden av salmonella och VTEC O157 vid den vattenhalt som eftersträvas i torkad spannmål?
 - b. Vilken är lagringstiden från skörd till utfodring?
 6. Vilken är sannolikheten att salmonella och VTEC O157 överlever värmebehandling och efterföljande pelletering?
 7. Vilken är sannolikheten att salmonella och VTEC O157 överlever ensilering av vall och majs?
-

5.1. SVAR PÅ SPECIFIKA FRÅGOR

Nedan besvaras de specifika frågor som listas i Tabell 1. Varje fråga bedöms utifrån tillgängligt kunskapsunderlag och varje bedömning följs av en uppskattning av osäkerheten i bedömningen, vilken inkluderar både bristande kunskapsunderlag och naturlig variation.

Vårt att notera är att närvaro av patogenerna inte är detsamma som att de är detekterbara. Bedömningen är inte kvantitativ dvs. det är inte en bedömning av hur stor mängd av salmonella och VTEC O157 som finns i de olika stegen. Dock påverkas bedömningen för de senare

frågeställningarna av en rimlighetsbedömning om huruvida den kvarvarande mängden av patogenerna är liten eller stor.

1. Vilken är sannolikheten att salmonella och VTEC O157 finns i flytgödseln från en smittad besättning?

Förekomst av salmonella och VTEC O157 i träck från smittade besättningar beror på prevalensen i besättningen och på utsöndringsnivån hos de olika individerna. Underlaget för att bedöma inombesättningsprevalensen i svenska nötkreatur- och grisbesättningar är svagt. Både salmonella och VTEC O157 kan utsöndras i höga halter i träck från infekterade individer. Studier har visat på utsöndringsnivåer av 10^2 - 10^8 CFU/g för salmonella bland nötkreatur och gris (Hutchison et al., 2005a, Wallis, 2006, Kirk, 2011, Barrow and Methner, 2013) och $<30 - 10^6$ CFU/g för VTEC O157 (Besser et al., 2001). För VTEC O157 talar man om att det i infekterade besättningar finns "supershedders" dvs. individer som utsöndrar ett förhållandevis stort antal bakterier i förhållande till övriga individer i en besättning. När det gäller besättningar infekterade med salmonella gör man traditionellt inte denna åtskillnad mellan låg- och högutsöndrande individer, dock förekommer högutsöndrande individer även i besättningar med salmonella. De högutsöndrande individerna antas motsvara en mindre del av de infekterade individerna i besättningen, dock föreligger stor osäkerhet när det gäller hur stor andel av en besättning som hör till denna grupp.

I gödselbrunnen späds träck ut med bl.a. urin och strömedel till flytgödsel. Mängden salmonella och VTEC O157 i flytgödsel beror därmed på utspädningsgraden av den träck som produceras i den smittade besättningen. Schablonvärden för TS-halt i flytgödsel från nötkreatur och gris (slaktsvin) är 9 % respektive 6 % (SJV, 2013). Baserat på en antagen TS-halt om 14 % i träck uppskattas utspädningsgraden i gödselbrunnen till runt 2 gångers utspädning.

Antaganden vid bedömning

Här antas att:

- andelen strömedel som blandas med träck, urin och vatten i gödselbrunnen är försumbar i förhållande till mängden träck och därmed att den torrs substans som återfinns i flytgödsel härstammar från träck.
- endast en liten del av de infekterade djuren är högutsöndrare.
- mängden spillvatten som tillförs gödselbrunnen inte är större än vid normal drift dvs. att ingen extra rengöring eller annan hantering som bidrar till att ökade mängder spillvatten tillförs gödselbrunnen förekommer.

Bedömning

Mycket hög

Osäkerhet i bedömningen

Medelhög

Faktorer som bidrar till osäkerhet i bedömningen

- Underlaget för inombesättningsprevalensen och utsöndringsnivåer av salmonella och VTEC O157 i svenska besättningar är bristfälligt.
- Naturlig variation i utsöndringsnivån mellan de infekterade djuren i besättningen.

2. Vilken är sannolikheten att salmonella eller VTEC O157 tillförs jorden/ marken vid spridning av semikontinuerligt lagrad flytgödsel från en smittad besättning?

Överlevnaden av patogener i gödsel möjliggör spridning till odlingsmark vid gödsling (Fukushima et al., 1999, Cieslak et al., 1993, Pell, 1997). Mängden salmonella och VTEC O157 som kan finnas i mark efter spridning beror både på mängden som finns i gödseln som sprids och på hur mycket

gödsel som sprids på odlingsmarken. Mängden patogener i gödseln som sprids beror i sin tur på överlevnad under lagring i flytgödselbrunnen. Kontinuerlig tillförsel av potentiellt smittad gödsel och det faktum att både salmonella och VTEC O157 kan överleva länge i flytgödsel bidrar till att semikontinuerlig lagring i flytgödselbrunnen inte kan förväntas eliminera patogenerna helt från materialet.

Även om bakterier kan tillväxa i gödsel (Blum, 1968, Wang et al., 1996), sker i de flesta fall en reduktion av salmonella och VTEC O157 under lagring av flytgödsel och nivåerna som kan detekteras i gödselbrunnen är ofta låga (Fleming and MacAlpine, 2004). Reduktion av salmonella och VTEC O157 i flytgödsel påverkas av flera olika omgivningsparametrar, vilket återspeglas i den stora mängd reduktionshastigheter och överlevnadstider som återfinns i litteraturen (Tabell 2). För VTEC O157/*E. coli* O157 rapporteras överlevnad i upp till 90 dagar i flytgödsel från nötkreatur (McGee et al., 2001, Avery et al., 2005a, Nicholson et al., 2005, Fremaux et al., 2007) och salmonella har rapporterats kunna överleva i upp till 286 dagar i flytgödsel. Även om underlaget inte är entydigt visar den generella trenden på en längre överlevnad vid lägre omgivningstemperaturer (Kudva et al., 1998, Wang et al., 1996, O'Neill et al., 2011, Himathongkham et al., 1999).

Tabell 2. Exempel på D-värden i flytgödsel från nötkreatur och gris.

Organism	Djurslag/besättningstyp	Temperatur/Årstid	D-värde (dagar)
Salmonella	Nöt	4°C	11,97
		14°C	10,51
VTEC	Nöt	4°C	3,90
		14°C	6,50

Källa: O'Neill *et al.* (2011)

Salmonella	Gris	Sommar	23,5-25,6
		Vinter	14,9-15,2
	Nöt/Mjöl	Sommar	6,8-8,9
		Vinter	17,4-18,5
	Nöt/Kött	Sommar	7,3-11,8
		Vinter	16,9-17,0
<i>E. coli</i> O157	Gris	Sommar	20,0-25,2
		Vinter	18,9-19,1
	Nöt/Mjöl	Sommar	6,5-11,6
		Vinter	25,4-33,3
	Nöt/Kött	Sommar	22,4-44,1
		Vinter	18,1-34,6

Källa: Hutchison *et al.* (2005b)

Antaganden vid bedömning

Här antas att:

- semikontinuerlig lagring av flytgödsel sker under 6 månader, vilket innebär att nytt material fylls på i brunnen varje dag.
- utsöndringsnivån och inombesättningsprevalensen är konstanta under lagringsperioden.

Bedömning

Mycket hög

Faktorer som bidrar till osäkerhet i bedömningen

- Variationen i överlevnad och reduktionshastigheter i litteraturen är stor. Variationen som återfinns mellan studierna beror såväl på metodologiska skillnader såsom val av detektionsmetod som svårigheter i att detektera bakterier i VBNC-stadiet, men även på naturlig variation t.ex. skillnader mellan serotyper eller sammansättning av gödseln, pH och torrsubstans i materialet som använts i studien.

3. Vilken är sannolikheten att salmonella och VTEC O157 finns kvar på/i jorden eller grödan vid skörd/betessläpp?

Ytspridning har fördelen att smittämnet utsätts för torka och UV-strålning vilket har en reducerande effekt (Hutchison et al., 2004, Semenov et al., 2009). Dock ökar ytspridning risken för smittspridning genom öppen exponering och för ytavrinning i samband med regn och översvämningar. Vid nedplöjning eller myllning minskar risken för den typen av smittspridning samtidigt som bakterien får en mer gynnsam miljö för överlevnad.

Vid fördelaktiga förhållanden kan både salmonella och VTEC O157 tillväxa i jord. Studier har visat på tillväxt av VTEC O157 i jord vid odling av lök och morötter (Islam et al., 2004a) vilket tyder på att rottillväxt/rhizosfären kan ha en inverkan på tillväxtmöjligheten för patogener. I konkurrens med bakterier som naturligt förekommer i jord kan salmonella och VTEC O157 ha svårt att tillväxa och överleva,

vilket innebär att en aktiv markflora bidrar till en kortare överlevnad av patogenerna i jord (Sidhu et al., 2001, Franz et al., 2005). Över tid sker dock en reduktion av patogenerna i/på mark. Hur snabbt en organism reduceras i miljön påverkas av ett stort antal parametrar, vilket också återspeglas i litteraturen där stora variationer i överlevnadstider och reduktionstider presenteras.

Lysimeterstudier utförda vid SVA har visat på en snabb initial reduktion av salmonella och *E. coli* O157 i gödselinblandad jord, men efter 180 dagar kunde fortfarande låga nivåer av bakterierna återfinnas i jorden (Nyberg et al., 2010). Även andra studier har rapporterat lång överlevnad av salmonella upp till 332 dagar i gödslad mark (Holley et al., 2006, Islam et al., 2004b, You et al., 2006) och för VTEC O157 i upp till 231 dagar (Jiang et al., 2002). Eftersom mängden patogener som introduceras till markmiljön med tiden reduceras kan karenstider tillämpas för att minska sannolikheten för exponering. Som ett exempel på detta kan lysimeterstudier med gödselinblandad jord utförda vid SVA nämnas där en tid om 1 alternativt 3 månader mellan gödselspridning och skörd/bete reducerar salmonella och VTEC O157 med ca $3 \log_{10}$ (99,9 %) respektive $5 \log_{10}$ (99,999 %) (Nyberg et al., 2010). Dock varierar reduktionshastigheten beroende på en mängd olika material- och omgivningsparametrar

Överlevnad av salmonella och VTEC O157 i/på jord påverkas av såväl konkurrens från den naturliga floran i materialet som predation av protozoer (Franz et al., 2005, Brandl et al., 2005). Även predation av protozoer kan bidra till en förlängd överlevnad av bakterierna i/på marken.

Kontamination av grödor kan förekomma när spridning av gödsel sker i växande gröda eller genom att gödsel stänker upp på grödor vid kraftigt regn men även genom internalisering av patogenerna i växtens inre vilket kan bidra till en ökad överlevnad av patogenerna. Studier tyder på att salmonella och VTEC O157 på detta sätt kan kontaminera grödor under hela växtsäsongen. Uptag av VTEC O157 har påvisats i rädisa och sallad (Solomon et al., 2002, Itoh et al., 1998). Internalisering av bakterierna har även påvisats i bl.a. stam och blad hos tomatplantor, krasse, majs, korn och vete (Barak and Liang, 2008, Cooley et al., 2003, Martinez et al., 2015, Kutter et al., 2006, Tobi and Bohm, 2009). Arthurson et al. (2011) visade på avsaknad av internalisering av

salmonella i spenat trots höga koncentrationer av patogenen i jorden. Resultaten tyder på att risken för internalisering varierar mellan olika grödor och även är beroende av kontaminationsgraden i jorden, vilket även stöds av studier utförda av Tobi och Böhm (2009).

Vid bete på återväxt av vall är det inte enbart eventuell kontamination av grödan via stänk eller eventuell internalisering av patogenerna som utgör ett problem. Som ett resultat av den teknik nötkreatur använder sig av vid bete kan de äta flera hektogram jord per dag (Thornton and Abrahams, 1983).

Utöver patogenernas förmåga att överleva i/på mark och gröda påverkas sannolikheten för att det finns patogener kvar vid skörd/betessläpp av mängden gödsel som sprids på åkermarken.

Antaganden vid bedömning

Här antas att:

- det mellan spridning av gödsel och skörd/betessläpp inte sker någon tillväxt av bakterierna i jorden.
- de patogener som tillförts jorden med flytgödseln inte spolats bort i samband med översvämningar eller skyfall.
- i de fall där bete sker på återväxt av vall, sker detta efter första vallskörden med minst 1 månad mellan gödsling och betessläpp (dvs. ingen 2a och 3e skörd).

Bedömning

Låg

Osäkerhet i bedömningen

Medelhög

Faktorer som bidrar till osäkerhet i bedömningen

- Variationen i överlevnad och reduktionshastigheter i litteraturen är stor. Variationen som återfinns mellan studierna beror såväl på metodologiska skillnader så som val av detektionsmetod som svårigheter i att detektera bakterier i VBNC-stadiet, men även på naturlig variation t.ex. mellan serotyper samt mellan olika typer av jordar.
- Underlaget rörande sannolikhet för internalisering och dess effekt på överlevnad av patogenerna bedöms som bristfälligt varför denna faktor ytterligare bidrar till osäkerheten.

4. Vilken är sannolikheten att en gröda kontamineras i samband med skörd?

Vid skörd av vallfoder och majs för ensilering kan jord och gödsel som följer med i materialet ge upphov till dålig hygien i ensilaget (Trioplast, 1995, Buxton and O'Kiely, 2003, Svensk mjölk, 2003). Vid en otillräcklig ensileringsprocess kan en sådan kontamination leda till att det färdigensilerade fodret innebär en hälsorisk för djur. Genom att följa managementdokument med rekommendationer för vallskörd och ensilering minimerar man sannolikheten för tillväxt av oönskade bakterier såsom salmonella och VTEC O157.

För att undvika att bakterier från gödselinblandad jord kommer in i ensilaget är det viktigt att undvika jordinblandning när vallen slås, detta kräver både jämna fält och att inte stubbhöjden är för låg. I allmänhet är en stubbhöjd på 6-8/ 8-10 cm (låg/hög stubbhöjd) lämplig för slätter av vall (Svensk mjölk, 2003). Stubben bidrar till att lyfta strängen från marken och minskar därmed risken för att jord kommer med i fodret. Det har påtalats att detta är extra viktigt i områden där man har problem med sork. Vid skörd av majs ligger rekommenderad stubbhöjd mellan 10-20 cm (Allen et al., 2003, Abrahamsson, 2008).

Institutet för jordbruks- och miljöteknik genomförde 2000 och 2001 en studie för att jämföra olika förtorkningsstrategier för vallskörd. Studien jämförde i) orörd konventionell sträng, ii) konventionell sträng med flyttning med strängläggare efter ca ett dygn, iii) bredspridning med bakmonterad strängläggare och iv) bredspridning med frammonterad strängläggare. Analys av förekomst av klostridier i jord och grönmassa kunde inte visa på några förhöjda halter i grönmassan och därmed inte heller på skillnad i förekomst mellan de olika strategierna. Dock kan den relativt låga mängd klostridier som man i studien detekterade i jord och förna ses som ett problem när det gäller att dra slutsatser från studien. Om skillnaden mellan jord och gröda varit större från början hade man lättare kunnat detektera eventuell kontaminering (Sundberg, 2002). Korrekt inställd utrustning för uppsamling av det förtorkade materialet är även det av vikt för att undvika jordinblandning.

Skörd av spannmål sker med en betydligt högre stubbhöjd än vid skörd av vall vilket bör begränsa inblandning av jord och gödsel vid skörd.

Antaganden vid bedömning

Här antas att:

- valet av förtorkningsstrategi inte påverkar kontaminationsgraden.
- skörd sker enligt gällande råd och rekommendationer för att undvika kontamination av grödan med jord och gödsel.

Bedömning

Låg (vall och majs)

Mycket låg (spannmål)

Osäkerhet i bedömningen

Medelhög

Faktorer som bidrar till osäkerhet i bedömningen

- Underlag saknas för hur frekvent inblandning av betydande mängder jord och gödsel sker vid skörd av vall, majs och spannmål.

5. Vilken är sannolikheten att salmonella och VTEC O157 finns kvar efter torkning och lagring av spannmål?

Tillväxt av salmonella och VTEC O157 kan ske under varma och fuktiga förhållanden, dvs. såväl temperatur som vattenhalt påverkar lagringsstabiliteten hos spannmål. För att undvika risken för tillväxt av bakterierna vid lagring av spannmål på gården är det viktigt att förvaring sker under torra förhållanden. Studier har visat att spannmål bör torkas till en vattenhalt av ungefär 13-14 % (Jones, 2011, Eisenberg, 2007). Vid långtidslagring av spannmål (mer än 6 månader) rekommenderas en vattenhalt på 14 % som riktvärde (LRF, 2013). Torkning ska ske så snart som möjligt efter skörd, då långsam torkning eller otillräcklig torkkapacitet bidrar till ökad risk för tillväxt av bakterier.

Antaganden vid bedömning

Här antas att:

- torkning och lagring av foder sker enligt gällande råd och rekommendationer och att salmonella och VTEC O157 inte tillväxer under torkning och lagring.
- den andel bakterier som förekommer i spannmål härstammar från internalisering av bakterierna i grödan.

Bedömning

Mycket låg

Osäkerhet i bedömningen

Hög

Faktorer som bidrar till osäkerhet i bedömningen

- Bristande underlag rörande internalisering av patogenerna i spannmål.

6. Vilken är sannolikheten att salmonella och VTEC O157 överlever värmebehandling och efterföljande pelletering?

Värmebehandling av spannmål är en effektiv process för att reducera VTEC och värmebehandling av foder vid 70°C under 20 och 120 sekunder har visats resultera i en ungefärlig reduktion av VTEC O157 om 1,3 respektive 2,2 log₁₀ (Hutchison et al., 2007). Värmebehandling som sker vid temperaturer mellan 70 och 90°C ses som en effektiv process för att reducera mängden salmonella i foder (Wierup, 2006, EFSA, 2008, Jones and Richardson, 2004). Värmebehandling i kommersiell foderproduktion förväntas resultera i en 2 log₁₀ reduktion av salmonella (Furuta et al., 1980, McCapes et al., 1989, Halls and Tallentire, 1978). Vid konditionering och pelletering vid så hög temperatur som 93°C under 90 sek vid 15 % fukthalt minskar salmonella med 4 log₁₀ (Himathongkham et al., 1996) Dock har studier visat att en liten andel salmonella kan överleva värmebehandling vid en hög kontaminationsgrad (EFSA, 2008).

Antaganden vid bedömning

Här antas att:

- mängden salmonella och VTEC O157 i det material som inkommer till foderfabriken är låg.
- att det under värmebehandlingen uppnås en tillräckligt hög temperatur för att avdöda salmonella och VTEC O157.
- att ingen tillväxt sker under hantering i foderfabriken.

Bedömning

Försumbar

Osäkerhet i bedömningen

Låg

Faktorer som bidrar till osäkerhet i bedömningen

-

7. Vilken är sannolikheten att salmonella och VTEC O157 överlever ensilering av vall och majs?

Genom att skapa en syrefri miljö i ensilaget gynnas tillväxten av mjölksyrabakterier som producerar mjölksyra, vilket leder till en sänkning av pH. Få bakterier trivs och kan växa till vid tillräckligt låga pH-värden och ett pH som är lägre än 4 skyddar därför fodret mot oönskade bakterier (Spörndly et al., 1988). I en ensileringsprocess där ett tillräckligt lågt pH förekommer (ner till ca pH 4) kan en kraftig reduktion av salmonella och VTEC O157 ses i samband med pH-sänkningen (Cook et al., 2013, Duniere et al., 2011, Pedroso et al., 2010, Avery et al., 2005b).

Om syre kommer in i ensilaget kan svampar och oönskade bakterier växa till, pH stiga och värme utvecklas, vilket även gynnar tillväxt av salmonella och VTEC O157 (Fenlon and Wilson, 2000, Svensk mjölk, 2003). För att undvika detta är det viktigt att silon/rundbalen är tät och inga skador i täckande skikt förekommer. Det är även viktigt att packa vallgrödan riktigt tätt i silon för att undvika att syre finns kvar inne i materialet. I studier där ensileringen inte varit helt syrefri ökade antalet *E. coli* O157 från 10³ CFU/g till 10⁶ CFU/g på två veckor (Fenlon et al., 2000, Fenlon and Wilson, 2000). En hög TS-halt försvårar packningen. Även mjölksyrabakteriernas tillväxt påverkas av vallfodrets TS-halt. Om vattenhalten blir för låg försvårar det tillväxten av mjölksyrabakterier

och därmed produktionen av mjölksyra som sänker pH i ensilaget (Svensk mjölk, 2003). Genom att följa managementdokument med rekommendationer för vallskörd och ensilering minimerar man sannolikheten för tillväxt av oönskade bakterier såsom salmonella och VTEC O157.

Antaganden vid bedömning

Här antas att

- ensilering sker enligt rekommendationer för en väl genomförd ensileringsprocess och lagring samt att inte ensileringen bryts i förtid.

Bedömning

Mycket låg

Osäkerhet i bedömningen

Låg

Faktorer som bidrar till osäkerhet i bedömningen

- Bristande underlag för att bedöma hur frekvent bristfälliga ensileringsprocesser förekommer.

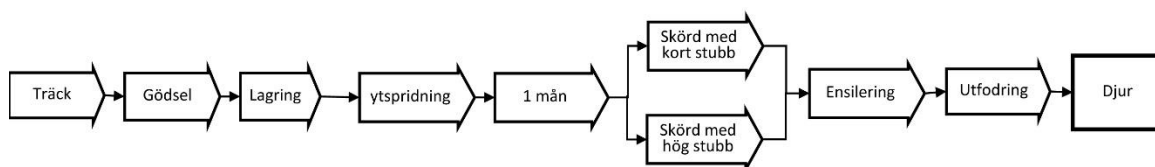
5.2. EXPONERING AV NÖTKREATUR OCH GRIS

Flera studier har visat på sambandet mellan kontaminerat foder och infektion med salmonella och VTEC O157 (Dodd et al., 2003, Sargeant et al., 2004, Dargatz et al., 2005, Österberg et al., 2006, Davis et al., 2003). Sannolikheten för att ett djur (nötkreatur eller gris) exponeras för en infektiös dos av salmonella och VTEC O157 från kontaminerat foder/bete är beroende av kontaminationsnivån på fodret/betet och den mängd foder/vall som djuret äter, dvs. den dos patogener som intas. Till följd av avsaknad av dos-responsmodeller för aktuella djurslag och patogener bedöms här inte sannolikheten för infektion utan istället sannolikheten att ett djur exponeras för en infektiös dos av salmonella och VTEC O157 via foder/bete till följd av spridning av gödsel från smittade gårdar.

Här har en samlad bedömning för både salmonella och VTEC O157 gjorts. Dock bör noteras att infektionsdosen för VTEC O157 är betydligt lägre vilket innebär att sannolikheten för att djur exponeras för en infektiös dos av VTEC O157 kan antas vara något högre än för salmonella.

Nedan följer den samlade bedömningen för respektive spridningsväg inklusive osäkerhet i bedömningen samt kommentarer rörande bedömningen.

5.2.1. Ensilage av vall



Samlad bedömning av spridningsväg

Försumbar

Osäkerhet i bedömningen

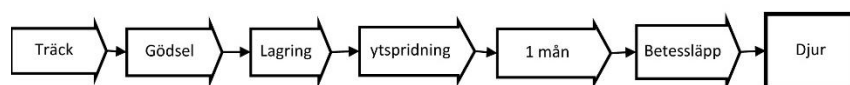
Låg

Kommentar

Vid skörd av vallgrödor kan sannolikheten att kontaminera grödan med jord och gödsel ytterligare minskas genom att genomföra skörden med en hög stubbhöjd när så krävs för att undvika

jord/gödselinblandning. Dock bedöms ensilering vara en god barriär för att aktivt minska mängden salmonella och VTEC O157 om dessa förekommer vid inläggningen av ensilaget.

5.2.2. Bete på vall



Samlad bedömning av spridningsväg

Låg

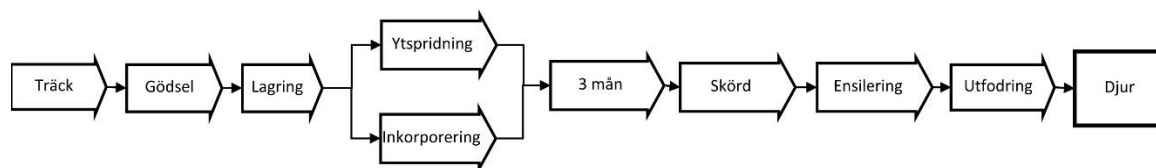
Osäkerhet i bedömningen

Medelhög

Kommentar

Vid bete på återväxt av vall förlitar vi oss på naturlig reduktion av salmonella och VTEC O157 från spridning av lagrad gödsel till betessläpp vilket i stort bidrar till osäkerheten i bedömningen. I förhållande till övriga smittspridningsvägar är tiden mellan gödselspridning och exponering av betande djur relativt kort. Detta i kombination med avsaknad av aktiva barriärer för att reducera salmonella och VTEC O157 bidrar till att sannolikheten för exponering bedöms vara högre än i övriga scenarier.

5.2.3. Majsensilage



Samlad bedömning av spridningsväg

Försumbar

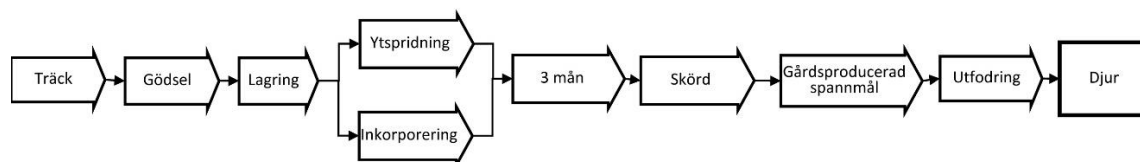
Osäkerhet i bedömningen

Låg

Kommentar

Inkorporering av gödseln vid spridning är fördelaktigt för att undvika spridning av smittor i miljön. Dock bedöms valet av spridningsmetod inte ha effekt på den slutliga bedömningen då ensilering bedöms vara en god barriär för att aktivt minska mängden salmonella och VTEC O157 om dessa förekommer vid inläggningen av ensilaget.

5.2.4. Gårdsproducerad spannmål



Samlad bedömning av spridningsväg

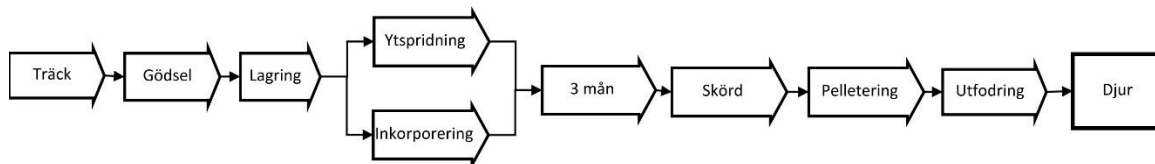
Mycket låg

Osäkerhet i bedömningen
Medelhög

Kommentar

Gårdsproducerad spannmål genomgår inte någon värmebehandling utan antas torkas och lagras på gården före utfodring. Avsaknaden av värmebehandling av gårdsproducerad spannmål innebär att en aktiv barrirär för reduktion av salmonella och VTEC O157 saknas. Istället måste vi förlita oss på naturlig reduktion av patogenerna från spridning av lagrad gödsel till skörd och utfodring av djur vilket bidrar till osäkerheten i bedömningen. Kombinationen av en tid av tre månader mellan spridning och skörd och bedömningen att sannolikheten för inblandning av jord/gödsel vid skörd är låg resulterar i bedömningen att mängden salmonella och VTEC O157 som tillförs spannmålen via jord/gödselinblandning vid skörd är liten. Därmed antas den mängden salmonella och VTEC O157 som finns i spannmål efter skörd främst vara ett resultat av internalisering av patogenerna i grödan. Kunskapsunderlaget för att bedöma sannolikheten för internalisering av salmonella och VTEC O157 i spannmål är bristfälligt vilket bidrar till en ökad osäkerhet i bedömningen. Dock antas även mängden salmonella och VTEC O157 som internaliseras vara liten.

5.2.1. Värmebehandlad spannmål



Samlad bedömning av spridningsväg
Försumbar

Osäkerhet i bedömningen
Låg

Kommentar

Inkorporering av gödseln vid spridning är fördelaktigt för att undvika spridning av smittor i miljön. Dock bedöms valet av spridningsmetod inte ha effekt på den slutliga bedömningen då värmebehandling bedöms vara en god barrirär som aktivt reducerar mängden salmonella och VTEC O157 om dessa förekommer i den skördade spannmålen.

6. Riskkaraktisering

Med dagens kunskapsläge och under de antaganden som gjorts bedöms sannolikheten för att nötkreatur eller gris exponeras för en infektiös dos av salmonella eller VTEC O157 via foder till följd av att flytgödsel från en känt salmonella- eller VTEC-smittad besättning (nötkreatur och gris) sprids på odlingsmark generellt som försumbar i samtliga scenarier utom vid gårdsproducerad spannmål och bete på återväxt.

Den modul som bedöms ha enskilt störst effekt på utfallet av bedömningen är den första, som beskriver utsöndring av salmonella och VTEC O157 i träck. Med vetskapen om att det saknas ett tillräckligt kunskapsunderlag angående inombesättningsprevalens och utsöndringsnivåer och hur dessa varierar över tid i en smittad besättning följer att samtliga moduler som följer på denna modul blir starkt beroende av de antaganden som görs här.

Vårt att notera när det handlar om spridningsteknik är att ytspridning ökar risken för smittspridning genom öppen exponering och innebär en ökad risk för ytavrinning i samband med regn och översvämningar. Samtidigt utsätts patogenerna vid ytspridning för en större påfrestning

från exempelvis UV-ljus och torka jämfört med inkorporering. Vid inkorporering, nedplöjning eller myllning, minskar risken för den typen av smittspridning samtidigt som bakterien får en mer gynnsam miljö för överlevnad.

6.1. SAMMANFATTANDE KOMMENTARER RÖRANDE OSÄKERHET I BEDÖMNINGEN

6.1.1. Dataunderlag

Det finns stora brister i dataunderlaget vad gäller både inombesättningsprevalens och utsöndringsnivåer av salmonella och VTEC O157 i svenska nötkreaturs- och grisbesättningar. Därför inkluderas såväl nationella som internationella data som underlag för bedömningen av utsöndringsnivåer. Det är därmed relevant att påtala att variationer kan förekomma mellan länder till följd av variationer i djurhållningen.

Kunskap om hur många djur i en smittad besättning som utsöndrar patogenerna samt andelen djur som är högutsöndrare är central för bedömningen. Här antas att andelen djur som är högutsöndrare är låg. Om så inte är fallet utan en stor del av besättningen ligger på höga utsöndringsnivåer kan den totala mängden salmonella och VTEC O157 i flytgödsel och därmed även i/på mark och grödor vid skörd vara betydligt högre.

6.1.2. Naturlig variation

Överlevnaden av mikroorganismer i olika material påverkas av en stor mängd olika omgivningsparametrar men är även ett resultat av den mängd av organismen som finns i eller tillsätts till materialet från början. Studier som enbart presenterar överlevnadstider är starkt beroende av den mängd av den undersökta mikroorganismen som finns i materialet vid undersökningens början och därmed kan stora variationer ses i överlevnadsdata som till stor del kan förklaras av olika mängd av mikroorganismer vid tidpunkt noll. Vid en jämförelse mellan olika studier kan det därför vara lättare att se till reduktionshastigheten uttryckt i form av t.ex. D-värden, den tid som krävs för att uppnå en 1 log₁₀ reduktion (90 %). Dock kvarstår en stor mängd faktorer som kan påverka reduktionshastigheten och stora variationer kan fortfarande ses mellan olika studier.

Osäkerhet som ett resultat av naturlig variation kan bero av skillnader mellan olika serotyper, gödseltyper och jordar samt en mängd omgivningsfaktorer som påverkar överlevnad och reduktion vid den tidpunkt som studien genomförts. Den naturliga variationen är stor när det kommer till överlevnad i gödsel och i/på mark vilket i sin tur innebär att ytterligare studier för att bedöma reduktionshastigheter inte med säkerhet kan minska osäkerheten i dessa moduler. Dock kan grundlig metaanalys av data kopplad till tillväxt, överlevnad och reduktion av salmonella och VTEC O157 i miljön vara av värde. Vidare kan även infektionsdosen variera beroende på exempelvis typ av besättning, ålder på djuren, immunstatus.

6.1.3. Val av detektionsmetod

Valet av detektionsmetod kan ha effekt på den mängd av patogenerna som detekteras och därmed påverka hur studien reflekterar den verkliga förekomsten av patogener i ett material. Flera patogener går in i ett s.k. VBNC-stadie när de utsätts för stress, detta innebär att de är levnadsdugliga men inte kan detekteras med traditionella odlingsmetoder. Man riskerar på så sätt att underskatta mängden patogener i ett material när traditionella odlingsmetoder används. (Colwell, 2009, Bjergbaek and Roslev, 2005, Domingo et al., 2000, Turpin et al., 1993, Buswell et al., 1998, Beumer et al., 1992, Kell et al., 1998, Gallay et al., 2006, Jones, 2001). Vidare kan även predation av protozoer bidra till en skenbar minskning av patogenerna då de kan överleva intracellulärt men inte detekteras med de traditionella odlingsmetoderna (Garcia et al., 2010, Gourabathini et al., 2008). Det finns därmed flera osäkerhetsfaktorer som bör belysas vid användning av odlingsbaserade metoder. Samtidigt riskerar man att överskatta överlevnaden av en

bakterie vid användande av PCR-baserade detektionsmetoder som inte kan skilja mellan förekomst av levande och döda bakterier i proverna.

Tillsats av mikroorganismer i samband med försök, s.k. spikning av materialet, kan även detta vara en bidragande osäkerhetsfaktor då det kan förekomma skillnader i överlevnadsförmåga mellan tillsatta mikroorganismer och naturligt förekommande organismer. Därtill sker spikning av material i studier ofta i högre halter än vad som förekommer i naturligt kontaminerade material.

6.2. RISKFAKTORER

Riskvärderingen förutsätter att det från utsöndring av patogenerna i träck och fram till utfodring sker en nettoreduktion av patogenerna. Dock finns flera riskfaktorer som kan bidra till ökad överlevnad eller tillväxt av salmonella och VTEC O157, under dessa förhållanden gäller inte bedömningen.

Riskfaktorer kopplade till management:

- Även om det i redovisade studier inte kan påvisas att valet av förtorkningsstrategi har effekt på risken för kontamination av vall är bredspridning och vändning av vall förknippat med en ökad risk för inblandning av jord i grödan, dock är det oklart till vilken grad sådan inblandning sker.
- Reduktionen av patogenerna vid värmebehandling i foderfabrik är beroende av en kombination av tid och temperatur. Om materialet har en hög kontaminationsgrad kan små mängder av patogenerna överleva värmebehandlingen och vid en otillräcklig kylning och torkningsprocess tillväxa i det färdigpelleterade fodret. Dock sker i foderfabriken en veckovis övervakning för att problemet ska kunna upptäckas.
- Reduktion av patogenerna vid ensilering bygger på en syrefri miljö där tillväxten av mjölksyrabakterier bidrar till ett så lågt pH så att det är ofördelaktigt för patogenerna. Brister i ensileringsprocessen som på något sätt bidrar till att ett tillräckligt lågt pH inte uppnås eller bibehålls kan bidra till både tillväxt och förlängd överlevnad av patogenerna.
- När silon öppnas för att börja utfodringen kommer syre in i ensilaget igen, vilket resulterar i en höjning av pH-värdet i ensilaget och därmed bidrar till mer gynnsamma förhållanden för tillväxt av eventuellt förekommande patogena mikroorganismer.
- Kontaminerat foder kan infektera vektordjur såsom gnagare och fåglar. När dessa infekteras kan de bidra till att återkontaminera lagrat foder och på så vis eventuellt upprätthålla infektionen på gården.
- Under förutsättning att det finns vatten, näring och tillräcklig värme kan tillväxt av patogenerna ske i foder under lagring samt i blandarvagnar och på foderbord.

Riskfaktorer kopplade till naturliga skeenden:

- Tillväxt av patogenerna kan ske i flytgödsel. Om tillväxt sker i gödselbrunnen kan det innebära att mängden salmonella och VTEC O157 efter spridning av flytgödsel underskattats.
- Tillväxt av patogenerna kan ske i/på mark. Om tillväxt sker i markmiljön kan det leda till att mängden av patogenerna vid tillfället för skörd har underskattats.

- Internalisering av patogenerna i grödor skyddar patogenerna från flera omgivningsfaktorer och kan bidra till en förlängd överlevnad av patogenerna.
- Vid skörd av liggsäd kan antas att det förekommer en ökad risk för kontamination av jord och gödsel.

6.3. KUNSKAPSLUCKOR

Följande har identifierats som betydande kunskapsluckor under arbetets gång:

- Det saknas underlag för inombesättningsprevalens, utsöndringsnivåer på individnivå och hur dessa förändras över tid i en smittad besättning.
- Infektionsdosen för nötkreatur och gris och kopplingen mellan infektionsförsök och sannolikhet för infektion i samband med foderintag är inte helt klarlagd.
- Kvantitativa data från studier där salmonella eller VTEC O157 förekommer naturligt, dvs studier med ej spikade material, saknas i många fall.
- Det saknas tillräckligt underlag för att hantera frågeställningar rörande internalisering av patogener i grödan.
- Det är oklart hur stor kontamination som sker i samband med skörd. Det är även oklart hur förändringar i maskinpark så som bredare skärbord på skördemaskiner påverkar risken för jordinblandning vid skörd.

7. Referenser

- ABRAHAMSSON, L. 2008. Majsensilage i Sverige.
- ACETO, H., MILLER, S. A. & SMITH, G. 2011. Onset of diarrhea and pyrexia and time to detection of *Salmonella enterica* subsp *enterica* in feces in experimental studies of cattle, horses, goats, and sheep after infection per os. *Javma-Journal of the American Veterinary Medical Association*, 238, 1333-1339.
- ALLEN, M. S., FORD, S. A. & BUCKMASTER, D. R. 2003. Corn silage. In: BUXTON, D. R., MUCK, R. E. & HARRISON, J. H. (eds.) *Silage science and technology*.
- ANON. 2003. Ensilering av vallfoder. *Kvalitetsäkrad mjölkproduktion*. Svensk Mjölks
- ARTHURSON, V., SESSITSCH, A. & JAEDERLUND, L. 2011. Persistence and spread of *Salmonella enterica* serovar Weltevreden in soil and on spinach plants. *Fems Microbiology Letters*, 314, 67-74.
- AVERY, L. M., KILLHAM, K. & JONES, D. L. 2005a. Survival of E-coli O157 : H7 in organic wastes destined for land application. *Journal of Applied Microbiology*, 98, 814-822.
- AVERY, S. M., WALTERS, L. D. & HUTCHISON, M. L. 2005b. Fate of *Escherichia coli* O157 and detection of stx phage during fermentation of maize, an animal feedstuff. *Letters in Applied Microbiology*, 40, 99-105.
- BARAK, J. D. & LIANG, A. S. 2008. Role of Soil, Crop Debris, and a Plant Pathogen in *Salmonella enterica* Contamination of Tomato Plants. *Plos One*, 3.
- BARROW, P. A. & METHNER, U. (eds.) 2013. *Salmonella in Domestic Animals*: CPi Group (UK) Ltd, Croydon.
- BEATTIE, G. A. & LINDOW, S. E. 1999. Bacterial colonization of leaves: A spectrum of strategies. *Phytopathology*, 89, 353-359.
- BELOTTI, C. 1990. *Vallboken*, Sveriges Lantbruksuniversitet.
- BESSER, T. E., RICHARDS, B. L., RICE, D. H. & HANCOCK, D. D. 2001. *Escherichia coli* O157 : H7 infection of calves: infectious dose and direct contact transmission. *Epidemiology and Infection*, 127, 555-560.
- BEUMER, R. R., DEVRIES, J. & ROMBOUTS, F. M. 1992. *Campylobacter-jejuni* nonculturable coccoid cells. *International journal of food microbiology*, 15, 153-163.
- BJERGBAEK, L. A. & ROSLEV, P. 2005. Formation of nonculturable *Escherichia coli* in drinking water. *Journal of Applied Microbiology*, 99, 1090-1098.
- BLANCO, M., BLANCO, J. E., BLANCO, J., GONZALEZ, E. A., MORA, A., PRADO, C., FERNANDEZ, L., RIO, M., RAMOS, J. & ALONSO, M. P. 1996. Prevalence and characteristics of *Escherichia coli* serotype O157:H7 and other verotoxin-producing E-coli in healthy cattle. *Epidemiology and Infection*, 117, 251-257.
- BLUM, J. 1968. Studies on the occurrence, tenacity, growth and disinfection of salmonellas in waste waters of agricultural enterprises. *Schweizer Archiv Tierheilkunde*, 110, 243-261.
- BOQVIST, S., ASPÁN, A. & ERIKSSON, E. 2009. Prevalence of Verotoxigenic *Escherichia coli* O157:H7 in fecal and ear samples from slaughtered cattle in Sweden. *Journal of Food Protection*, 72, 1709-12.
- BRANDL, M. T., ROSENTHAL, B. M., HAXO, A. F. & BERK, S. G. 2005. Enhanced survival of *Salmonella enterica* in vesicles released by a soilborne *Tetrahymena* species. *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 1562-1569.
- BUSWELL, C. M., HERLIHY, Y. M., LAWRENCE, L. M., MCGUIGGAN, J. T. M., MARSH, P. D., KEEVIL, C. W. & LEACH, S. A. 1998. Extended survival and persistence of *Campylobacter* spp. water and aquatic biofilms and their detection by immunofluorescent-antibody and -rRNA staining. *Applied and Environmental Microbiology*, 64, 733-741.
- BUXTON, D. R. & O'KIELY, P. 2003. Preharvest plant factors affecting ensiling. In: BUXTON, D. R., MUCK, R. E. & HARRISON, J. H. (eds.) *Silage science and technology*. American Society of Agronomy, Inc., Crop Science Society of America, Inc., Soil Science Society of America, Inc.

- CEUSTERMANS, A., DE CLERCQ, D., AERTSEN, A., MICHELS, C., GEERAERD, A., VAN IMPE, J., COOSEMANS, J. & RYCKEBOER, J. 2007. Inactivation of Salmonella Senftenberg strain W 775 during composting of biowastes and garden wastes. *Journal of Applied Microbiology*, 103, 53-64.
- CHANDLER, D. S. & CRAVEN, J. A. 1980. RELATIONSHIP OF SOIL-MOISTURE TO SURVIVAL OF ESCHERICHIA-COLI AND SALMONELLA-TYPHIMURIUM IN SOILS. *Australian Journal of Agricultural Research*, 31, 547-555.
- CHASE-TOPPING, M., GALLY, D., LOW, C., MATTHEWS, L. & WOOLHOUSE, M. 2008. Supershedding and the link between human infection and livestock carriage of Escherichia coli O157. *Nature reviews. Microbiology*, 6, 904-12.
- CIESLAK, P. R., BARRETT, T. J., GRIFFIN, P. M., GENSHEIMER, K. F., BECKETT, G., BUFFINGTON, J. & SMITH, M. G. 1993. Escherichia coli O157:H7 infection from a manured garden. *Lancet*, 342, 367.
- COLWELL, R. R. 2009. *Viable but not cultivable bacteria*, SPRINGER.
- COOK, K. L., FLIS, S. A. & BALLARD, C. S. 2013. Sensitivity of Mycobacterium avium subsp paratuberculosis, Escherichia coli and Salmonella enterica serotype Typhimurium to low pH, high organic acids and ensiling. *Journal of Applied Microbiology*, 115, 334-345.
- COOLEY, M. B., MILLER, W. G. & MANDRELL, R. E. 2003. Colonization of Arabidopsis thaliana with Salmonella enterica and enterohemorrhagic Escherichia coli O157 : H7 and competition by Enterobacter asburiae. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 4915-4926.
- CRAY, W. C. & MOON, H. W. 1995. Experimental infection of calves and adult cattle with Escherichia coli O157:H7. *Applied and Environmental Microbiology*, 61, 1586-90.
- DARGATZ, D. A., STROHMEYER, R. A., MORLEY, P. S., HYATT, D. R. & SALMAN, M. D. 2005. Characterization of Escherichia coli and Salmonella enterica from cattle feed ingredients. *Foodborne Pathogens and Disease*, 2, 341-347.
- DAVIS, M. A., HANCOCK, D. D., RICE, D. H., CALL, D. R., DIGIACOMO, R., SAMADPOUR, M. & BESSER, T. E. 2003. Feedstuffs as a vehicle of cattle exposure to Escherichia coli O157 : H7 and Salmonella enterica. *Veterinary Microbiology*, 95, 199-210.
- DODD, C. C., SANDERSON, M. W., SARGEANT, J. M., NAGARAJA, T. G., OBERST, R. D., SMITH, R. A. & GRIFFIN, D. D. 2003. Prevalence of Escherichia coli O157 in cattle feeds in midwestern feedlots. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 5243-5247.
- DOMINGO, J. W. S., HARMON, S. & BENNETT, J. 2000. Survival of Salmonella species in river water. *Current Microbiology*, 40, 409-417.
- DRIEHUIS, F. & DUDE ELFERINK, S. J. W. H. 2000. The impact of the quality of silage on animal health and food safety: a review. *The Veterinary Quarterly*, 22, 212-216.
- DUNIERE, L., GLEIZAL, A., CHAUCHEYRAS-DURAND, F., CHEVALLIER, I. & THEVENOT-SERGENTET, D. 2011. Fate of Escherichia coli O26 in Corn Silage Experimentally Contaminated at Ensiling, at Silo Opening, or after Aerobic Exposure, and Protective Effect of Various Bacterial Inoculants. *Applied and Environmental Microbiology*, 77, 8696-8704.
- DURSO, L. M., SMITH, D. & HUTKINS, R. W. 2004. Measurements of fitness and competition in commensal Escherichia coli and E. coli O157 : H7 strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 70, 6466-6472.
- EFSA 2008. Microbiological risk assessment in feedingstuffs for food-producing animals - Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards *EFSA Journal* 720, 1-84.
- EFSA 2011. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2009. *EFSA Journal*, 9, 378.
- EISENBERG, S. 2007. Relative stability of selenites and selenates in feed premixes as a function of water activity. *Journal of Aoac International*, 90, 349-353.
- ELVING, J., VINNERAS, B., ALBIHN, A. & OTTOSON, J. R. 2014. Thermal treatment for pathogen inactivation as a risk mitigation strategy for safe recycling of organic waste in

- agriculture. *Journal of Environmental Science and Health Part B-Pesticides Food Contaminants and Agricultural Wastes*, 49, 679-689.
- ERIKSSON, E., ASPAN, A., GUNNARSSON, A. & VAGSHOLM, I. 2005. Prevalence of verotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC) O157 in Swedish dairy herds. *Epidemiology and Infection*, 133, 349-358.
- ERIKSSON, J. 1998. *Hur säkerställs odling av silomajs*. Examensarbete i Lantmästarprogrammet, Sveriges Lantbruksuniversitet.
- FENLON, D. R., OGDEN, I. D., VINTEN, A. & SVOBODA, I. 2000. The fate of *Escherichia coli* and E-coli O157 in cattle slurry after application to land. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 149S-156S.
- FENLON, D. R. & WILSON, J. 2000. Growth of *Escherichia coli* O157 in poorly fermented laboratory silage: a possible environmental dimension in the epidemiology of E-coli O157. *Letters in Applied Microbiology*, 30, 118-121.
- FLEMING, R. & MACALPINE, M. 2004. Survival of pathogenic bacteria in liquid manure storages. Ridgetown College - University of Guelph.
- FRANZ, E., VAN DIEPENINGEN, A. D., DE VOS, O. J. & VAN BRUGGEN, A. H. C. 2005. Effects of cattle feeding regimen and soil management type on the fate of *Escherichia coli* O157 : H7 and *Salmonella enterica* serovar typhimurium in manure, manure-amended soil, and lettuce. *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 6165-6174.
- FREMAUX, B., DELIGNETTE-MULLER, M. L., PRIGENT-COMBARET, C., GLEIZAL, A. & VERNZOY-ROZAND, C. 2007. Growth and survival of non-O157:H7 Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* in cow manure. *J Appl Microbiol*, 102, 89-99.
- FUKUSHIMA, H., HOSHINA, K. & GOMYODA, M. 1999. Long-term survival of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O26, O113, and O157 in bovine feces. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 5177-5181.
- FURUTA, K., MORIMOTO, S. & SATO, S. 1980. Bacterial contamination in feed ingredients, formulated chicken feed and reduction of viable bacteria by pelleting. *Laboratory Animals*, 14, 221-224.
- GAGLIARDI, J. V. & KARNS, J. S. 2002. Persistence of *Escherichia coli* O157:H7 in soil and on plant roots. *Environmental Microbiology*, 42, 89-96.
- GALLAY, A., DE VALK, H., COURNOT, M., LADEUIL, B., HEMERY, C., CASTOR, C., BON, F., MEGRAUD, F., LE CANN, P., DESENCLOS, J. C. & OUTBREAK INVEST, T. 2006. A large multi-pathogen waterborne community outbreak linked to faecal contamination of a groundwater system, France, 2000. *Clinical Microbiology and Infection*, 12, 561-570.
- GARCIA, R., BAELUM, J., FREDSLUND, L., SANTORUM, P. & JACOBSEN, C. S. 2010. Influence of Temperature and Predation on Survival of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium and Expression of *invA* in Soil and Manure-Amended Soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 76, 2025-5031.
- GOURABATHINI, P., BRANDL, M. T., REDDING, K. S., GUNDERSON, J. H. & BERK, S. G. 2008. Interactions between food-borne pathogens and protozoa isolated from lettuce and spinach. *Applied and Environmental Microbiology*, 74, 2518-2525.
- HALLS, N. A. & TALLENTIRE, A. 1978. Effects of processing and gamma-irradiation on microbiological contaminants of a laboratory-animal diet. *Laboratory Animals*, 12, 5-10.
- HIMATHONGKHAM, S., BAHARI, S., RIEMANN, H. & CLIVER, D. 1999. Survival of *Escherichia coli* O157 : H7 and *Salmonella typhimurium* in cow manure and cow manure slurry. *FEMS Microbiology Letters*, 178, 251-57.
- HIMATHONGKHAM, S., PEREIRA, M. D. & RIEMANN, H. 1996. Heat destruction of *Salmonella* in poultry feed: Effect of time, temperature, and moisture. *Avian Diseases*, 40, 72-77.

- HOLLEY, R. A., ARRUS, K. M., OMINSKI, K. H., TENUTA, M. & BLANK, G. 2006. Salmonella survival in manure-treated soils during simulated seasonal temperature exposure. *J Environ Qual*, 35, 1170-80.
- HORA, R., WARRINER, K., SHELP, B. J. & GRIFFITHS, M. W. 2005. Internalization of Escherichia coli O157 : H7 following biological and mechanical disruption of growing spinach plants. *Journal of Food Protection*, 68, 2506-2509.
- HUTCHISON, M. L., THOMAS, D. J. I. & AVERY, S. M. 2007. Thermal death of Escherichia coli O157 : H7 in cattle feeds. *Letters in Applied Microbiology*, 44, 357-363.
- HUTCHISON, M. L., WALTERS, L. D., AVERY, S. M., MUNRO, F. & MOORE, A. 2005a. Analyses of livestock production, waste storage, and pathogen levels and prevalences in farm manures. *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 1231-1236.
- HUTCHISON, M. L., WALTERS, L. D., MOORE, A. & AVERY, S. M. 2005b. Declines of zoonotic agents in liquid livestock wastes stored in batches on-farm. *Journal of Applied Microbiology*, 99, 58-65.
- HUTCHISON, M. L., WALTERS, L. D., MOORE, A., CROOKES, K. M. & AVERY, S. M. 2004. Effect of length of time before incorporation on survival of pathogenic bacteria present in livestock wastes applied to agricultural soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 70, 5111-5118.
- ISLAM, M., MORGAN, J., DOYLE, M. P. & JIANG, X. P. 2004a. Fate of Escherichia coli O157 : H7 in manure compost-amended soil and on carrots and onions grown in an environmentally controlled growth chamber. *Journal of Food Protection*, 67, 574-578.
- ISLAM, M., MORGAN, J., DOYLE, M. P., PHATAK, S. C., MILLNER, P. & JIANG, X. 2004b. Fate of Salmonella enterica Serovar Typhimurium on Carrots and Radishes Grown in Fields Treated with Contaminated Manure Composts or Irrigation Water. *Applied and Environmental Microbiology*, 70, 2497-2502.
- ISLAM, M., MORGAN, J., DOYLE, M. P., PHATAK, S. C., MILLNER, P. & JIANG, X. 2004c. Persistence of Salmonella enterica serovar typhimurium on lettuce and parsley and in soils on which they were grown in fields treated with contaminated manure composts or irrigation water. *Foodborne pathogens and disease*, 1, 27-35.
- ITOH, Y., SUGITA-KONISHI, Y., KASUGA, F., IWAKI, M., HARA-KUDO, Y., SAITO, N., NOGUCHI, Y., KONUMA, H. & KUMAGAI, S. 1998. Enterohemorrhagic Escherichia coli O157 : H7 present in radish sprouts. *Applied and Environmental Microbiology*, 64, 1532-1535.
- JIANG, X., MORGAN, J. & DOYLE, M. P. 2002. Fate of Escherichia coli O157:H7 in manure-amended soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 2605-2609.
- JONES, F. T. 2011. A review of practical Salmonella control measures in animal feed. *Journal of Applied Poultry Research*, 20, 102-113.
- JONES, F. T. & RICHARDSON, K. E. 2004. Salmonella in commercially manufactured feeds. *Poultry Science*, 83, 384-391.
- JONES, K. 2001. Campylobacter in water, sewage and the environment. *Journal of Applied Microbiology*, 90, 68S-79S.
- JORDBRUKSVERKET 2013a. Gödsel och miljö 2014 - Vägledningsmaterial för -lagring och spridning av gödsel, - höst- och vinterbevuxen mark.
- JORDBRUKSVERKET 2013b. Riktlinjer för gödsling och kalkning 2014. *Jordbruksinformation*.
- KARMALI, M. A., MASCARENHAS, M., SHEN, S. H., ZIEBELL, K., JOHNSON, S., REID-SMITH, R., ISAAC-RENTON, J., CLARKS, C., RAHN, K. & KAPER, J. B. 2003. Association of genomic O(-)island 122 of Escherichia coli EDL 933 with verocytotoxin-producing Escherichia coli seropathotypes that are linked to epidemic and/or serious disease. *Journal of Clinical Microbiology*, 41, 4930-4940.
- KELL, D. B., KAPRELYANTS, A. S., WEICHART, D. H., HARWOOD, C. R. & BARER, M. R. 1998. Viability and activity in readily culturable bacteria: a review and discussion of the

- practical issues. *Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology*, 73, 169-187.
- KERRY, B. R. 2000. Rhizosphere interactions and the exploitation of microbial agents for the biological control of plant-parasitic nematodes. *Annual Review of Phytopathology*, 38, 423-441.
- KIRK, J. H. 2011. *Pathogens in manure - Strategies to Prevent Infections* [Online]. Available: <http://www.learningace.com/doc/1323129/bdd550247379eff6811e30bfdbe7b6dd/pathog-manure>.
- KUDVA, I. T., BLANCH, K. & HOVDE, C. J. 1998. Analysis of Escherichia coli O157 : H7 survival in ovine or bovine manure and manure slurry. *Applied and Environmental Microbiology*, 64, 3166-3174.
- KUTTER, S., HARTMANN, A. & SCHMID, M. 2006. Colonization of barley (*Hordeum vulgare*) with *Salmonella enterica* and *Listeria* spp. *Fems Microbiology Ecology*, 56, 262-271.
- LANG, N. L. & SMITH, S. R. 2008. Time and temperature inactivation kinetics of enteric bacteria relevant to sewage sludge treatment processes for agricultural use. *Water Research*, 42, 2229-2241.
- LAPIDOT, A. & YARON, S. 2009. Transfer of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium from Contaminated Irrigation Water to Parsley Is Dependent on Curli and Cellulose, the Biofilm Matrix Components. *Journal of Food Protection*, 72, 618-623.
- LAW, D. 2000. Virulence factors of *Escherichia coli* O157 and other Shiga toxin-producing *E. coli*. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 729-745.
- LRF 2013. Nationella Branschriktlinjer för livsmedels- och fodersäkerhet vid produktion av spannmål, oljeväxter och trindsäd.
- LYNN, T. V., HANCOCK, D. D., BESSER, T. E., HARRISON, J. H., RICE, D. H., STEWART, N. T. & ROWAN, L. L. 1998. The occurrence and replication of *Escherichia coli* in cattle feeds. *Journal of Dairy Science*, 81, 1102-1108.
- MARTINEZ, B., STRATTON, J., BIANCHINI, A., WEGULO, S. & WEAVER, G. 2015. Transmission of *Escherichia coli* O157:H7 to Internal Tissues and Its Survival on Flowering Heads of Wheat. *Journal of Food Protection*, 78, 518-524.
- MCCAPES, R. H., EKPERIGIN, H. E., CAMERON, W. J., RITCHIE, W. L., SLAGTER, J., STANGELAND, V. & NAGARAJA, K. V. 1989. Effect of a new pelleting process on the level of contamination of poultry mash by *Escherichia coli* and *Salmonella*. *Avian Diseases*, 33, 103-111.
- MCGEE, O., BOLTON, D. J., SHERIDAN, J. J., EARLY, B. & LEONARD, N. 2001. The survival of *Escherichia coli* O157:H7 in slurry from cattle fed different diets. *Letters in Applied Microbiology*, 32, 152-155.
- MEAD, P. S. & GRIFFIN, P. M. 1998. *Escherichia coli* O157:H7. *The Lancet*, 352, 1207-1212.
- MITSCHERLICH, E. & MARTH, E. H. 1984. *Microbial survival in the environment. Bacteria and rickettsiae important in human and animal health*, Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- MUKHERJEE, A., CHO, S., SCHEFTEL, J., JAWAHIR, S., SMITH, K. & DIEZ-GONZALEZ, F. 2006. Soil survival of *Escherichia coli* O157:H7 acquired by a child from garden soil recently fertilized with cattle manure. *Journal of Applied Microbiology*, 101, 429-36.
- NATVIG, E. E., INGHAM, S. C., INGHAM, B. H., COOPERBAND, L. R. & ROPER, T. R. 2002. *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and *Escherichia coli* contamination of root and leaf vegetables grown in soils with incorporated bovine manure. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 2737-2744.
- NICHOLSON, F. A., GROVES, S. J. & CHAMBERS, B. J. 2005. Pathogen survival during livestock manure storage and following land application. *Bioresource Technology*, 96, 135-43.
- NYBERG, K. A., VINNERAS, B., OTTOSON, J. R., ARONSSON, P. & ALBIHN, A. 2010. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Typhimurium in manure-amended soils studied in outdoor lysimeters. *Applied Soil Ecology*, 46, 398-404.

- O'CALLAGHAN, M., GERARD, E. M. & JOHNSON, V. W. Effect of soil moisture and temperature on survival of microbial control agents. *In: ZYDENBOS, S. M., ed. New Zealand Plant Protection Society, 2001 New Zealand, 14-16 August 2001.* 128-135.
- O'NEILL, C. J., BOLTON, D. J. & FANNING, S. 2011. Brief communication: Comparative studies on the survival of Verocytotoxigenic *Escherichia coli* and *Salmonella* in different farm environments. *Agriculture, Food and Analytical Bacteriology*, 1, 116-122.
- OGDEN, I. D., MACRAE, M. & STRACHAN, N. J. C. 2004. Is the prevalence and shedding concentrations of E-coli O157 in beef cattle in Scotland seasonal? *Fems Microbiology Letters*, 233, 297-300.
- OGDEN, L. D., FENLON, D. R., VINTEN, A. J. & LEWIS, D. 2001. The fate of *Escherichia coli* O157 in soil and its potential to contaminate drinking water. *International journal of food microbiology*, 66, 111-7.
- PEDROSO, A. F., ADESOGAN, A. T., QUEIROZ, O. C. M. & WILLIAMS, S. K. 2010. Control of *Escherichia coli* O157:H7 in corn silage with or without various inoculants: Efficacy and mode of action. *Journal of Dairy Science*, 93, 1098-1104.
- PELL, A. N. 1997. Manure and microbes: public and animal health problem? *Journal of dairy science*, 80, 2673-81.
- PETTERSON, O., SUNDBERG, M. & WESTLIN, H. 2009. Maskiner och metoder i vallodling - resultat av en enkät till mjölkproducenter. *JTI-rapport Lantbruk & Industri 377*.
- RECORBET, G., STEINBERG, C. & FAURIE, G. 1992. Survival in soil of genetically engineered *Escherichia coli* as related to inoculum density, predation and competition. *Fems Microbiology Ecology*, 101, 251-260.
- ROSENBAUM NIELSEN, L. 2003. *Salmonella Dublin in dairy cattle*. PhD Thesis, KVL.
- ROSENBAUM NIELSEN, L. 2012. *Salmonella Dublin* faecal excretion probabilities in cattle with different temporal antibody profiles in 14 endemically infected dairy herds. *Epidemiology and Infection*, 141, 1937-1944.
- ROSENBAUM NIELSEN, L. 2013. *Salmonella Dublin in cattle-Epidemiology, design and evaluation of surveillance and eradication programmes*. Dr. med. vet. Thesis, University of Copenhagen
- SAHLSTRÖM, L. 2003. A review of survival of pathogenic bacteria in organic waste used in biogas plants. *Bioresource Technology*, 87, 161-166.
- SARGEANT, J. M., SANDERSON, M. W., GRIFFIN, D. D. & SMITH, R. A. 2004. Factors associated with the presence of *Escherichia coli* O157 in feedlot-cattle water and feed in the Midwestern USA. *Preventive Veterinary Medicine*, 66, 207-237.
- SAVOIE, P. & JOFRIET, J. C. 2003. Silage storage. *In: BUXTON, D. R., MUCK, R. E. & HARRISON, J. H. (eds.) Silage science and technology*. American Society of Agronomy, Inc. Crop Science Society of America, Inc. Soil Science Society of America, Inc. .
- SEMENOV, A. V., VAN OVERBEEK, L. & VAN BRUGGEN, A. H. C. 2009. Percolation and Survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium in Soil Amended with Contaminated Dairy Manure or Slurry. *Applied and Environmental Microbiology*, 75, 3206-3215.
- SIDHU, J., GIBBS, R. A., HO, G. E. & UNKOVICH, I. 2001. The role of indigenous microorganisms in suppression of *Salmonella* regrowth in composted biosolids. *Water Research*, 35, 913-20.
- SJV 2013. Föreskrifter om ändring i Statens jordbruksverks föreskrifter och allmänna råd (SJVFS 2004:62) om miljöhänsyn i jordbruket vad avser växtnäring. *In: BOARD, S. A. (ed.)*.
- SNIDER, T. A., GULL, T., JACKSON, T. A., MARTINEZ-BECERRA, F. J., PICKING, D. R., PICKING, W. D. & PICKING, W. L. 2014. Experimental salmonellosis challenge model in older calves. *Veterinary Microbiology*, 170, 65-72.
- SOLOMON, E. B., YARON, S. & MATTHEWS, K. R. 2002. Transmission of *Escherichia coli* O157:H7 from contaminated manure and irrigation water to lettuce plant tissue and its subsequent internalization. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 397-400.

- SPÖRNDLY, R., EVERITT, B. & BERGGREN, M. 1988. Ensilering - en biologisk process. *Sveriges Lantbruksuniversitet, Speciella skrifter 34*. Uppsala.
- STRACHAN, N. J., FENLON, D. R. & OGDEN, I. D. 2001. Modelling the vector pathway and infection of humans in an environmental outbreak of *Escherichia coli* O157. *FEMS Microbiol Lett*, 203, 69-73.
- SUNDBERG, M. 2002. Bredspridning av vall vid slåtter. *JTI-rapport 291*.
- SVA 2011. Kartläggning av möjligheter att använda serologi-ELISA för att effektivisera kontrollen av salmonella i svinbesättningar, SVA Dnr 2010/967.
- SVA 2014. Surveillance of infectious diseases in animals and humans in Sweden 2013. In: ELVANDER, M., LAHTI, E. & ROSENDAL, T. (eds.) *SVA:s rapportserie 26 ISSN 1654-7098*.
- SVENSK MJÖLK 2003. Ensilering av vallfoder. *Kvitetssäkerad mjölkproduktion*.
- THORNTON, I. & ABRAHAMS, P. 1983. Soil ingestion - A major pathway of heavy metals into livestock grazing contaminated land. *Science of the Total Environment*, 28, 287-294.
- TIQUIA, S. M., TAM, N. F. Y. & HODGKISS, I. J. 1998. Salmonella elimination during composting of spent pig litter. *Bioresource Technology*, 63, 193-196.
- TOBI, D. & BOHM, R. 2009. *Uptake of Salmonella enterica in monocotyledonous and dicotyledonous model plants*.
- TRIOPLAST 1995. Konsten att storbalsensilera - en guide för effektiv produktion av storbalsensilage.
- TURPIN, P. E., MAYCROFT, K. A., ROWLANDS, C. L. & WELLINGTON, E. M. H. 1993. Viable but non-culturable Salmonellas in soil. *Journal of Applied Bacteriology*, 74, 421-427.
- WALLIS, T. S. 2006. Host-specificity of Salmonella infection in animal species. In: MASTROENI, P. & MASKELL, D. (eds.) *Salmonella Infections - Clinical, Immunological and Molecular Aspects*. Cambridge University Press.
- WANG, G., ZHAO, T. & DOYLE, M. P. 1996. Fate of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in bovine feces. *Applied and Environmental Microbiology*, 62, 2567-2570.
- WARRINER, K., SPANIOLAS, S., DICKINSON, M., WRIGHT, C. & WAITES, W. M. 2003. Internalization of bioluminescent *Escherichia coli* and *Salmonella* Montevideo in growing bean sprouts. *Journal of Applied Microbiology*, 95, 719-727.
- WHO 2007. Codex Alimentarius - Working Principles for Risk Analysis for Food Safety for Application by Governments.
- WIDGREN, S., ERIKSSON, E., ASPAN, A., EMANUELSON, U., ALENIUS, S. & LINDBERG, A. 2013. Environmental sampling for evaluating verotoxigenic *Escherichia coli* O157:H7 status in dairy cattle herds. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 25, 189-198.
- WIERUP, M. 2006. Salmonella i foder - en utredning på uppdrag av Jordbruksverket om orsaker och risker samt förslag till åtgärder.
- YAUN, B. R., SUMNER, S. S., EIFERT, J. D. & MARCY, J. E. 2003. Response of *Salmonella* and *Escherichia coli* O157 : H7 to UV energy. *Journal of Food Protection*, 66, 1071-1073.
- YAUN, B. R., SUMNER, S. S., EIFERT, J. D. & MARCY, J. E. 2004. Inhibition of pathogens on fresh produce by ultraviolet energy. *International Journal of Food Microbiology*, 90, 1-8.
- YOU, Y., RANKIN, S. C., ACETO, H. W., BENSON, C. E., TOTH, J. D. & DOU, Z. 2006. Survival of *Salmonella enterica* serovar Newport in manure and manure-amended soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 72, 5777-83.
- ÖSTERBERG, J. 2010. *Salmonella in Pigs - Infection Dynamics of Different Serotypes*. Doctoral.
- ÖSTERBERG, J., VAGSHOLM, I., BOQVIST, S. & LEWERIN, S. S. 2006. Feed-borne outbreak of *Salmonella* Cubana in Swedish pig farms: Risk factors and factors affecting the restriction period in infected farms. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 47, 13-21.



besökadress: Ulls väg 2B **adress.** 751 89 Uppsala **telefon.** +46 18 67 40 00
fax. 018 30 91 62 **e-post.** sva@sva.se **webb.** www.sva.se