Udarbejdet af	Bertel Strandbygaard, Elisabeth Holm, Øystein Angen, Charlotte Sværke Jørgensen, Louise Lohse
Øvrige deltagere	
Kontaktperson i FVST	Anna Huda

Dato for henvendelse	Dato for svarfrist	Dato for afsendelse	Versionsnummer
25-1-2021	25-2-2021	24-2-2021	1

Journalnummer/sagsnummer	FVST	KU	SSI
	2021-14-81-09099	061-192/21-3680	21/00980

Besvarelse vedr.

Sygdomsovervågning: Sensitivitet og specificitet for anvendte tests

Bestilling

Beskrivelse af bestilling (opgaveformulering, formål, afgrænsning)
FVST er i gang med at udarbejde beskrivelse af overvågningsprogrammerne for de husdyrsygdomme, hvor DK har officiel sygdomsfri status. Hertil har vi brug for oplysninger om sensitivitet og specificitet for de til overvågningen anvendte tests.

Baggrund/kontekst for bestilling (hvorfor, til brug for hvad)
Når EU's nye husdyrsygdomslov træder i kraft, skal DK kunne opretholde status som sygdomsfri for en række husdyrsygdomme, samt efterfølgende vedligeholde denne status.

Form og omfang af bestilling (kort svar, notat, rapport, mødedeltagelse m.v.)
FVST har brug for oplysning om sensitivitet og specificitet for hver af de anvendte tests til overvågningsundersøgelser af følgende sygdomme:
Tuberkulose hos kvæg (MTBC) (slettes fra bestillingen)
Enzootisk bovin leukose*
Brucellose hos kvæg
Brucellose hos får
Brucellose hos geder
IBR*
Aujeszkys sygdom

* For disse sygdomme sendes også henvendelse til Eurofins Laboratorium, da en stor del af overvågningsundersøgelserne gennemføres på dette laboratorium (udpeget som officielt lab).

Svar

Rutinemæssig overvågning for de nævnte sygdomme foregår via blod- og mælkeprøver der udtages og indsendes til serologisk undersøgelse.

Dansk Veterinær Konsortium · Enhed for Veterinær Myndighedsbetjening · vet-myn@sund.ku.dk · www.dkvet.dk

Der udføres frivillig undersøgelse for enzootisk bovin leukose (EBL) i besætninger, der har importeret dyr til levebrug. Mælkeproducerende besætninger der har indkøbt dyr testes på tankmælk, mens øvrige besætninger (kødproducerende) testes på slagteblod. Undersøgelserne udføres på godkendt laboratorium (Eurofins).
Herudover udtages blodprøver fra dyr i forbindelse med indsættelse/afgang og årsprøver på tyrestation efter bekendtgørelse om tyresæd og inseminering af kvæg BEK nr. 1493 af 12/12/2019. Efterfølgende laboratorieundersøgelse foretages på det nationale referencelaboratorie (SSI).

Serologisk undersøgelse af kvæg for Brucellose foretages primært i forbindelse med indsættelse/afgang og årsprøver på tyrestation efter bekendtgørelse om tyresæd og inseminering af kvæg BEK nr. 1493 af 12/12/2019. Der foretages ikke en egentlig overvågning på besætningsniveau, og det er derfor ret få prøver der undersøges (og kun handyr). Laboratorieundersøgelse foretages på det nationale referencelaboratorium (SSI).
For får og geder foretages der overvågning på blodprøver indsendt til det frivillige Maedi Visna program. Undersøgelserne foretages af Center for Diagnostik, DTU.

Overvågning for infektiøs bovin rhinotracheitis (IBR) foregår efter BEK nr. 1450 af 12/12/2019. Fra samtlige mælkeleverende besætninger udtager mejeriet leverandørmælkeprøver til undersøgelse for antistoffer mod IBR. Fra samtlige ikke-mælkeleverende besætninger der slagtes dyr fra, udtager slagteriet slagteblodprøve til undersøgelse for antistoffer mod IBR. Udtagelse af prøver sker efter SEGES risikobaserede overvågningsprogram, som er godkendt af Fødevarestyrelsen. Undersøgelserne foretages på godkendt laboratorium (Eurofins).
Herudover udtages blodprøver fra dyr i forbindelse med indsættelse/afgang og årsprøver på tyrestation efter bekendtgørelse om tyresæd og inseminering af kvæg BEK nr. 1493 af 12/12/2019. Efterfølgende laboratorieundersøgelse foretages på det nationale referencelaboratorie (SSI).

Overvågning for Aujeszkys sygdom foregår efter BEK nr. 1457 af 12/12/2019 samt efter bekendtgørelse om ornesæd BEK nr. 1455 af 12/12/2019. Der udtages blodprøver på slagteri, eksportmarkeder, karantæne- og årsprøver på ornestationer, samt i forbindelse med jagt og nedlægning af vildsvin. Efterfølgende laboratorieundersøgelser foregår på det nationale referencelaboratorie (SSI).

Oplysning om sensitivitet og specificitet for hver af de anvendte tests til serologiske undersøgelser af brucellose hos kvæg, får og geder:

Der benyttes følgende 4 serologiske test til påvisning af brucellose hos kvæg, får og geder:
Serum agglutinations test (SAT), Rose-Bengal test (RBT), Elisa og komplementtest (CFT), hvor SAT regnes for at være den mindst specifikke.
Det er almindeligt kendt at andre bakterier kan give falsk positive resultater i de serologiske test, specielt *Yersinia enterocolitica* O:9, men også *E-coli* O157 og visse salmonella serotyper. Af denne årsag bliver eventuelle positive reaktioner altid bekræftet ved test med mindst 2 forskellige metoder.
Den præcise sensitivitet og specificitet for disse test kendes ikke.
OIE har reference standarder for de forskellige typer af test, med fastlagte koncentrationer, som benyttes ved analyse for at sikre at brucellose diagnostikken er standardiseret i alle lande/reference laboratorier.
Kommercielle ELISA test opgiver typisk en sensitivitet og specificitet på eller tæt ved 100% ved test på besætninger der er kendt positive/negative for brucellose (men reelt krydsreaktivitet med f.eks. yersinia er ikke undersøgt).
Laboratoriet deltager i ringtest for metoderne RBT, SAT og ELISA (Vetqas og ANSES), mens undersøgelserne ved CFT foretages af EU/OIE referencelaboratoriet ANSES i Frankrig. SSI har et tæt samarbejde med ANSES i forbindelse med afklaring af SAT positive prøver.

Dyrkning for Brucella spp.
Dyrkning foretages, hvis de serologiske test er positive i mindst 2 forskellige metoder. Dyrkning kan også foretages, hvis der påvises kliniske symptomer forenelige med brucellose.
I forbindelse med FVSTs overvågning af kvægaborter foretages dyrkning for brucella fra fosterorganer fra alle indsendelser.
Dyrkning er OIEs anbefalede metode for påvisning af brucellaagens. Organmateriale dyrkes på selektive medier (CITA-agar) i 10 dage før et negativt resultat besvares.
Den præcise sensitivitet af dyrkningstesten kendes ikke, men dyrkning bliver betragtet som mere sensitiv end PCR. OIE-manualen angiver +++ for dyrkning og ++/+ for PCR i sine anbefalinger (1).
Specificiteten for dyrkning er meget høj og tæt på 100%.

Oplysning om sensitivitet og specificitet for den anvendte test til overvågningsundersøgelser af Aujeszky's sygdom hos svin:
Til serologisk overvågning for Aujeszky' sygdom benyttes en kommerciel Competition ELISA fra IDvet. SSI har benyttet testen siden juli 2019.
På baggrund af data fra 2020 er det muligt at bestemme en specificitet på 99,8%. Der blev i 2020 testet 31.201 prøver og fundet 57 ikke-negative prøver hvoraf de 56 prøver efterfølgende blev testet negative i Aujeszky-Neutralisationstest, mens én prøve udviste cytotoksisk reaktion og kunne ikke aflæses (ny prøve udtaget fra samme dyr blev testet negativ i neutralisationstest ved nyt opsæt). Sensitiviteten på testen er af producenten oplyst at være 100% eller tæt herpå[1]. Vores erfaring fra deltagelse i ringtest (Vetqas og OIE reference-lab) tyder ikke på at testen afviger herfra, men noget eksakt tal kan ikke beregnes på gældende prøvegrundlag.

Oplysning om sensitivitet og specificitet for de anvendte tests til overvågningsundersøgelser af IBR hos kvæg:
Til serologisk overvågning for IBR benyttes en kommerciel Competition ELISA fra IDvet. SSI har benyttet testen siden juli 2019.
På baggrund af data fra 2020 er det muligt at bestemme en specificitet på 99,8%. Der blev i 2020 fundet 1 ikke-negativ prøve, som efterfølgende blev testet negativ i IBR-Neutralisationstest. Det skal dog i denne sammenhæng nævnes at SSI tester en begrænset mængde prøver (768 i 2020). Det store volumen testes på Eurofins, der i dag benytter samme test.
Sensitiviteten på testen er af producenten oplyst at være 100% eller tæt herpå[1]. Vores erfaring fra deltagelse i ringtest (Vetqas) tyder ikke på en sensitivitet der afviger herfra, men noget eksakt tal kan ikke beregnes på gældende prøvegrundlag.

Til overvågning på mælk benyttes IBR Milk Indirect Assay fra IDvet. Der er tale om en indirekte ELISA der ved test har vist en meget høj sensitivitet.
Generelt er vores adgang til data meget begrænset, da vi kun modtager prøver som har givet anledning til uklare testresultater på andre laboratorier, men vurderet ud fra deltagelse i ringtest (Vetqas) og ved sammenligning med andre laboratorier, vurderer vi at testen har en specificitet og sensitivitet tæt på 100 %. Samme test benyttes af Eurofins.

Oplysning om sensitivitet og specificitet for de anvendte tests til overvågningsundersøgelser af EBL hos kvæg:
Til serologisk overvågning for EBL benyttes en kommerciel Competition ELISA fra IDvet. SSI har benyttet testen siden efteråret 2019, som erstatning for vores In-house test.
På baggrund af data fra 2020, hvor der er testet 630 prøver, har testen vist en specificitet på 100%. Det er på den baggrund rimeligt at antage at testen har en specificitet tæt på de 100 % producenten hævder.

Dansk Veterinær Konsortium · Enhed for Veterinær Myndighedsbetjening · vet-myn@sund.ku.dk · www.dkvet.dk

Det skal dog i den sammenhæng nævnes at SSI tester en begrænset mængde prøver, da det store volumen også her testes på Eurofins.
Med hensyn til sensitiviteten på testen er den af producenten ligeledes oplyst at være 100%[1]. Det er ikke muligt at beregne sensitiviteten på tilgængeligt dansk prøvemateriale. Vores erfaring fra deltagelse i ringtest (Vetqas) og ved sammenligning med andre laboratorier antyder at sensitiviteten er tæt på 100%.

Til overvågning på mælk benyttes Lactelisa BLV Ab Bi Indirect tank 250 fra Synbiotics Corporation. Der er tale om en indirekte ELISA der ved test har vist meget høj følsomhed, specificiteten og sensitiviteten af testen bestemmes til hhv. 100% og 99,6% (2).
Generelt er vores adgang til egne data meget begrænset da SSI kun modtager prøver som har givet anledning til uklare testresultater på andre laboratorier og der testes kun i begrænset omfang for EBL i Danmark. Ud fra deltagelse i ringtest (Vetqas) og ved sammenligning med andre laboratorier, vurderer vi at testen har den specificitet og sensitivitet tæt på 100 % som fremgår af referencen.

[1]Vedr. reference på sensitivitet/specificitet på kommercielle test: De interne valideringer der udføres af producenten og som ligger til grund for beregning af sensitivitet/specificitet er typisk dokumenter vi modtager ved forespørgsel. Dokumenterne er normalt ikke publiceret og de er derfor ikke angivet som reference i svaret.

Referencer:

(1) https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.04_BRUCELLOSIS.pdf

(2) Ridge and Galvin, 2005. 'A comparison of two ELISAs for the detection of antibodies to bovine leucosis virus in bulk-milk, Australien Veterinary Journal, vol 83 no 7, https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2005.tb13085.x