

Udarbejdet af	Søren Saxmose Nielsen
Øvrige deltagere	Carsten Kirkeby (review)
Kontaktperson i FVST	Nikoline Johansson

Dato for henvendelse	Dato for svarfrist	Dato for afsendelse	Versionsnummer
23-07-2025	01-10-2025	08-08-2025	1.0

Journalnummer/sagsnummer	FVST	KU	SSI
	061-0469/25-368	2025-83078	25/03108

Besvarelse vedr.

- › Håndtering af positive testresultater for paratuberkulose i eksportkarantæner for kvæg

Bestilling

› I forbindelse med eksport af kvæg til tredjelande stilles der i nogle tilfælde krav om, at dyrene skal være testet negative for bl.a. paratuberkulose i en eksportkarantæne forud for eksport. Dette har givet anledning til en diskussion om, hvordan veterinærenhederne og operatørerne skal forholde sig ved positive eller inkonklusive testresultater for paratuberkulose i eksportkarantænen.

Oftest består disse eksporter til tredjelande af kvæg med en alder på under 24 måneder, og dyrene udviser ingen kliniske symptomer. Når dyr i denne alder testes for paratuberkulose, kan resultaterne være forbundet med en stor usikkerhed, og smitterisikoen mellem dyr anses for lav.

Det, der skal forsøges klarlagt med denne bestilling, er:

- 1) Hvorvidt der er en reel smitterisiko mellem ét dyr, der tester positivt for antistoffer mod paratuberkulose og resten af dyrene i eksportkarantænen?
- 2) Det ønskes klarlagt, om der er en aldersforskel for denne smitterisiko?
- 3) Endeligt ønskes det beskrevet, om alderen af dyrene kan spille ind på specificiteten og sensitiviteten af bestemte testmetoder for paratuberkulose herunder ELISA.
- 4) Såfremt at der er en reel smitterisiko mellem dyrene, ønskes det klarlagt, om denne anses for værende betydelig.

Svar

Metoder

Spørgsmålene er besvaret på baggrund af litteratursammendrag efterfulgt af vurdering, der også inkluderer usikkerhed. Spm. 1 inddrager alle aldersgrupper, mens spm. 2 fokuserer mere specifikt på aldersforskellen, spm. 3 andrager forskelle i sensitivitet og specificiteter for forskellige aldersgrupper, men også for forskellige måltilstande (infektion og smittefarlighed), og slutteligt er spm. 4 fokuseret på ELISA-positive kvæg, der er <24 måneder, og som går sammen med kvæg, der er >12 måneder gamle.

Litteratursammendrag

Paratuberkulose er en kronisk infektion hos kvæg. Paratuberkulose forårsages af *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP). Det er primært dyr yngre end 6 måneder, der bliver smittet, men ældre dyr kan formentlig også smittes ved højt smittepres, selvom der ikke foreligger dokumentation herfor (opsummeret i Table 1.1 i Nielsen, 2009). Eventuel smitte i eksportkarantænestalde vil foregå via den oro-fækale rute, idet et smittet dyr kan udskille store mængder MAP i fæces, og disse kan optages via kontamineret foder. Andre smitteveje er også mulige (mælk, råmælk, vertikal *in utero* og via sæd), men disse anses umiddelbart for værende irrelevante i eksportkarantænestalden, hvor det antages, at der ikke fodres med mælk og råmælk, og hvor det antages, at hun- og handyr holdes adskilt.

Udskillelse af MAP er stærkt korreleret med alder på kvæget, idet smitteudskillelse er sjælden hos kvæg yngre end 24 måneder. Således udgjorde køer i alderen 2-3 år kun 2% af smitteudskillerne blandt alle voksne smitteudskillerne i paratuberkulose-programmet i Victoria, Australien i 1992-2002 (Jubb og Galvin, 2004). Der var ikke data på yngre dyr, men alderseffekten er tydelig i ovennævnte og lignende studier (se Nielsen, 2009), således som det også er illustreret under danske forhold (Nielsen og Ersbøll, 2006).

Det primære immunsvær ved infektion med MAP er celledierede immunreaktioner. Disse kan følges af humorale immunreaktioner, der er karakteriseret ved forekomst af IgG-antistoffer. En in-house test, som tidligere har været brugt i Danmark, havde ca. 25% testpositive 1 år før omfattende bakterieudskillelse, 70% test-positive da bakterieudskillelsen startede og 90% test-positive et år efter registreret start af bakterieudskillelse (Nielsen, 2008). Test fra IDEXX og ID-Vet, som i dag anvendes i Danmark, har en højere følsomhed, hvorfor ca. 90% positive estimeres positive ved start af bakterieudskillelse (Nielsen, 2009, Figure 2).

Dermed kan kvæg, der på et tidspunkt bliver smitteudskillerne, teste positive for antistoffer, når de begynder bakterieudskillelse og også flere år før.

Specificiteten af de anvendte antistof-ELISA-test er tæt på 100%. Specificiteten for mælke-testen, der anvendes i Danmark, er estimeret til 98,66% ved et cut-off på 0,15 S/P% (Nielsen et al., 2013).

Specificitetsestimater for serum-ELISA test, som typisk anvendes til eksport-dyr, er generelt baseret på færre prøver end ovennævnte, men er >95% og måske >99% (opsummeret i Nielsen & Toft, 2008). Der er risiko for falsk-positive, som formentlig skyldes: krydsreaktioner, tekniske laboratoriefejl, ombytning af prøver o.lign., men disse er ikke kvantificeret og for manges vedkommende også ringe dokumenterede. En personlig vurdering fra forfatteren af dette notat er, at >99% af test-reaktionerne er specifikke.

Test-positive reaktioner kan således være uspecifikke ELISA-reaktioner eller være udtryk for antistoffer både hos kvæg, der udskiller MAP, og kvæg, der ikke udskiller MAP. Da antistoffer kan forekomme lang tid før MAP-udskillelse, og da unge dyr sjældent udskiller MAP, vil ELISA-reaktioner oftest skyldes falsk-positive ELISA-reaktioner eller forekomst af antistoffer, der ikke er associeret med MAP-udskillelse.

Infektion af kvæg kræver en vis infektiøs dosis til (>10 mg vådvægt el. >10⁵ cfu. MAP), formentlig med væsentlig større dosis for ældre end for helt unge dyr (Hines et al., 2007; Sweeney, 2011).

Usikkerhed

Kvalitative begreber for risiko er omsat til kvantitativ fortolkning jf. tabel U1, og sikkerhed for vurderinger er lavet ud fra tabel U2.

Tabel U1. Kvalitative risiko-estimer (modificeret efter EFSA, doi: 10.2903/j.efsa.2018.5123):

Kvalitativt begreb	Kvantitativ fortolkning (%)
Næsten 100% sandsynligt	99-100
Ekstremt sandsynligt	95-99
Meget sandsynligt	90-95
Sandsynligt	66-90
Lige så sandsynligt som usandsynligt	33-66
Mindre sandsynligt	10-33
Usandsynligt	1-10
Meget usandsynligt	0,1-1
Ekstremt usandsynligt	0,001-0,1
Nærmest umuligt	<0,001

Tabel A2. Sikkerheds-estimer. Bruges til at angive, hvor sikker vurderingen er for svaret på et spørgsmål*#

Kvalitativ term for sikkerhed ved vurdering	Kvantitativ fortolkning for sikkerhed (%)
Ekstremt høj	>99
Meget høj	>95
Høj	>90
Moderat	>66
Lav	>50

*) Eksempel: "Vi er >50% sikre på, at svaret er "Nej", eller "Vi er >99% sikre på, at den sande værdi ligger i sandsynlighedsintervallet 25-35%". Sikkerheden afhænger af kvaliteten af den evidens, der har været til rådighed ved vurderingen ; #) Lavet med udgangspunkt i Table 7 i EFSA's guidancedokument, "The principles and methods behind EFSA's Guidance on Uncertainty Analysis in Scientific Assessment", <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5122>

Vurdering

- 1) Er der reel smitterisiko imellem et dyr, der tester positivt for antistoffer mod paratuberkulose og resten af dyrene i eksportkarantænen?

Det følger af ovenstående, at de mest modtagelige dyr er dyr <6 måneder, mens dyr >2 år er dem, der udskiller flest bakterier. ELISA-positive dyr er ikke nødvendigvis MAP-udskillere, men de kan være det. Jo ældre dyrene er, des større er sandsynligheden. Unge dyr kan udskille MAP, men gør det sjældent og i givet fald i små mængder. Ældre dyr er ikke så modtagelige. Risikoen for smitte til resten af dyrene er derfor større end 0, men stadig meget begrænset. Sikkerheden på denne vurdering er høj (>90%).

- 2) Er der aldersforskel på smitterisikoen?

Der er meget stor forskel mellem aldersgrupper, dels i modtagelighed, dels i sandsynlighed for udskillelse, dels i mængden af udskilte bakterier, idet kalve < 6 måneder er langt mere modtagelige end dyr > 24 mdr., sandsynlighed for udskillelse er meget begrænset for dyr < 24 måneder, og mængder af udskilte bakterier er typisk begrænset, hvis der sker udskillelse. Sikkerheden på denne vurdering er ekstremt høj (>99%).

Hvorvidt der er forskel i, om et ungt ELISA-positivt dyr har mindre sandsynlighed for at udskille MAP end et ældre ELISA-positivt dyr foreligger der ikke umiddelbart information om i litteraturen. Sikkerheden på denne vurdering er høj (>90%).

3) Kan alder af dyrene kan spille ind på specificiteten og sensitiviteten af bestemte testmetoder for paratuberkulose herunder ELISA?

Da paratuberkulose er en kronisk infektion, spiller alder en stor rolle i forhold til sensitivitet af diagnostiske metoder, der påviser IgG1 antistoffer (indirekte ELISA) og bakterieudskillelse (f.eks. PCR og bakteriologisk dyrkning). Jo større alder, desto større er sensitiviteten (Nielsen et al., 2013). I forhold til specificitet er det uvist om der er en effekt af alder.

4) Hvis der en reel smitterisiko fra ELISA-positive dyr, er denne så betydelig?

Dette spørgsmål besvares for ELISA-positive dyr, der er <24 måneder, og som går sammen med kvæg, der er >12 måneder gamle. I dette scenario vurderes det, at de ELISA-positive dyr vil have lav sandsynlighed for at udskille MAP; hvis de udskiller MAP, vil det være i små mængder, der formentlig er mindre end den infektiøse dosis. Samtidig går de sammen med dyr, der har en mindre risiko for at blive smittet i forhold til helt unge kalve (0-6 mdr.).

Hvorvidt risikoen er betydelig er et risikomanagement spørgsmål, som ikke kan besvares i en risikovurdering. Det vurderes, at smitte fra et dyr til de øvrige er meget usandsynlig (0,1 – 1%). Det er ekstremt usandsynligt (0,001-0,1%), at et dyr bliver smittet og udvikler kliniske tegn på paratuberkulose, da det er usandsynligt, at der sker smitte; dernæst skal det smittede dyr efterfølgende formentlig leve flere år end et dyr, der smittes som helt ungt, for at udvikle klinisk sygdom. Sikkerheden på denne vurdering er høj (>90%).

Referencer

- Collins MT, Wells SJ, Petrini KR, Collins JE, Schultz RD, Whitlock RH, 2005. Evaluation of five antibody detection tests for diagnosis of bovine paratuberculosis. Clin Diagn Lab Immunol. 12:685-92. doi: 10.1128/CDLI.12.6.685-692.2005.
- Hines ME 2nd, Stabel JR, Sweeney RW, Griffin F, Talaat AM, Bakker D, Benedictus G, Davis WC, de Lisle GW, Gardner IA, Juste RA, Kapur V, Koets A, McNair J, Pruitt G, Whitlock RH, 2007. Experimental challenge models for Johne's disease: a review and proposed international guidelines. Vet Microbiol. 122:197-222. doi: 10.1016/j.vetmic.2007.03.009.
- Jubb TF, Galvin JW, 2004. Effect of a test and control program for Johne's disease in Victorian beef herds 1992-2002. Aust Vet J. 82:164-6. doi: 10.1111/j.1751-0813.2004.tb12649.x.
- Nielsen SS, 2008. Transitions in diagnostic tests used for detection of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis infections in cattle. Vet Microbiol. 132:274-82. doi: 10.1016/j.vetmic.2008.05.018.
- Nielsen SS, 2009. Paratuberculosis in dairy cattle – Epidemiological studies used for design of a control programme in Denmark. Dr.med.vet. afhandling. (<https://researchprofiles.ku.dk/files/107262512/ptb.pdf>)
- Nielsen SS, Ersbøll AK, 2006. Age at occurrence of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in naturally infected dairy cows. J Dairy Sci. 89:4557-66. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72505-X.
- Nielsen SS, Toft N, 2008. Ante mortem diagnosis of paratuberculosis: a review of accuracies of ELISA, interferon-gamma assay and faecal culture techniques. Vet Microbiol. 129:217-35. doi: 10.1016/j.vetmic.2007.12.011.



Nielsen SS, Toft N, Okura H, 2013. Dynamics of specific anti-*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* antibody response through age. PLoS One. 8:e63009. doi: 10.1371/journal.pone.0063009.

Sweeney RW, 2011. Pathogenesis of paratuberculosis. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 27:537-46, v. doi: 10.1016/j.cvfa.2011.07.001.
