



Kan *Campylobacter* överföras via hönsägg?

Can Campylobacter be transmitted via hens' eggs?

Jeremy Rocchio

Självständigt arbete • 30 hp
Sveriges lantbruksuniversitet, SLU
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Veterinärprogrammet
Uppsala 2021



Kan *Campylobacter* överföras via hönsägg?

Can Campylobacter be transmitted via hens' eggs?

Jeremy Rocchio

Handledare: Ingrid Hansson, Sveriges lantbruksuniversitet (SLU), Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Bitr. handledare: Lise-Lotte Fernström, Sveriges lantbruksuniversitet (SLU), Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Bitr. handledare: Désirée S. Jansson, Sveriges lantbruksuniversitet (SLU), Institutionen för kliniska vetenskaper

Examinator: Sara Frosth, Sveriges lantbruksuniversitet (SLU), Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Omfattning: 30 hp

Nivå och fördjupning: A2E

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX0869

Program/utbildning: Veterinärprogrammet

Kursansvarig inst.: Institutionen för kliniska vetenskaper

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2021

Nyckelord: *Campylobacter jejuni*, ägg, höns, kyckling, överlevnad, överföring

Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Publicering och arkivering

Godkända självständiga arbeten (examensarbeten) vid SLU publiceras elektroniskt. Som student äger du upphovsrätten till ditt arbete och behöver godkänna publiceringen. Om du kryssar i **JA**, så kommer fulltexten (pdf-filen) och metadata bli synliga och sökbara på internet. Om du kryssar i **NEJ**, kommer endast metadata och sammanfattning bli synliga och sökbara. Fulltexten kommer dock i samband med att dokumentet laddas upp arkiveras digitalt.

Om ni är fler än en person som skrivit arbetet så gäller krysset för alla författare, ni behöver alltså vara överens. Läs om SLU:s publiceringsavtal här: <https://www.slu.se/site/bibliotek/publicera-och-analysera/registrera-och-publicera/avtal-for-publicering/>.

JA, jag/vi ger härmed min/vår tillåtelse till att föreliggande arbete publiceras enligt SLU:s avtal om överlåtelse av rätt att publicera verk.

NEJ, jag/vi ger inte min/vår tillåtelse att publicera fulltexten av föreliggande arbete. Arbetet laddas dock upp för arkivering och metadata och sammanfattning blir synliga och sökbara.

Sammanfattning

Campylobacterios är den vanligaste rapporterade orsaken till magtarminfektion hos människor i såväl Sverige som övriga Europa och USA. *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* är den underart som oftast orsakar sjukdom. Sjukdomen orsakar stora ekonomiska kostnader för samhället varje år. Det är också ett stort lidande för människor som blir smittade då de vanligaste symtomen är diarré, buksmärtor, kräkningar och feber, dessutom finns risk för att man drabbas av följsjukdomar. Det krävs endast att man får i sig en liten mängd bakterier för att bli sjuk.

De vanligaste orsakerna till att drabbas av campylobacterios är genom att konsumera kontaminerade kyckling/kycklingprodukter, mjölkprodukter eller vatten. De flesta djur kan ha *Campylobacter* i träcken utan att bli sjuka. Slaktkycklingar kan ha höga halter av *Campylobacter* i träcken vilka kan överföras till slaktkropparna vid slakt, och som sedan kan smitta konsumenten. Ägg kan komma i kontakt med träck i kloaken hos hönan och kan då bli kontaminerade med *Campylobacter* på skalet, och då i teorin möjligen överförs till människor eller kycklingar. Det är dock inte känt huruvida människor kan smittas av *Campylobacter* via äggskal, eller om *Campylobacter* kan överföras från höna till kyckling via äggskal. Syftet med denna studie var att undersöka om *Campylobacter* kan överleva på utsidan av ägg och i så fall hur länge. Resultaten kan bidra till att besvara frågeställningarna om kontaminerade konsumtionsägg kan orsaka campylobacterios hos människa samt om *Campylobacter* kan överföras från föräldradjur till kycklingar vid förekomst av *Campylobacter* på utsidan av ägget.

Överlevnad av *Campylobacter* på ägg undersöktes genom att ägg doppades i buljonger med olika koncentrationer av *Campylobacter* samt med eller utan tillsats av en blindtarmslösning. Äggen förvarades i kyl och analyserades efter olika lång tid avseende överlevnad av *Campylobacter*. Analyserna gjordes genom standardiserade metoder (ISO 10272) genom anrikning i Bolton buljong och odling på mCCD-agar. Tre olika sekvenstyper av *Campylobacter jejuni* (ST-257, ST-148 och ST-918) med olika ursprung användes i studien. *Campylobacter* överlevde på 16 av 90 ägg som analyserades efter ett dygn. På ett ägg kunde *Campylobacter* påvisas efter 10 dygn.

Baserat på resultaten i denna studie går det inte att utesluta att det som konsument finns en risk att bli smittad av *Campylobacter* via ägg. Risken är dock liten då det är en rad kriterier som behöver uppfyllas för att det ska vara möjligt. Risken är dock större för personal på packerier och på gårdar som hanterar ägg kort efter att de värpts. Det finns också en risk att en miljösmitta på exempelvis ett kläckeri skulle kunna härstamma från ett ägg kontaminerat med *Campylobacter*.

Nyckelord: Campylobacter jejuni, ägg, höns, kyckling, överlevnad, överföring

Abstract

Campylobacteriosis is the most reported cause of gastrointestinal infection in people in Sweden as well as the rest of Europe and the USA. *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* is the subspecies that most often causes disease. The disease causes large financial costs to society every year. It is also a great burden for people who become infected as the most common symptoms are diarrhea, abdominal pain, vomiting and fever and that there is a risk of several sequelae. Only a small number of bacteria is needed to cause disease.

The most common ways of becoming infected are by consuming contaminated chicken / chicken products, dairy products, or water. Most animals can have *Campylobacter* in their feces without showing any symptoms of disease. Broilers can have high levels of *Campylobacter* in the feces which could contaminate carcasses at slaughter, and which can then infect the consumer. Eggs may come in contact with feces in the cloacal of the hen and may become contaminated with *Campylobacter* on the shell and may in theory be transmitted to humans or chickens. However, it is not known whether humans can be infected with *Campylobacter* via eggshells, or whether *Campylobacter* can be transmitted from chicken to chicken via eggshells. The aim of this study was to examine whether *Campylobacter* can survive on the outside of eggs and if so, for how long. The results can help answer the questions of whether table eggs can cause campylobacteriosis in humans and whether *Campylobacter* can be transmitted from parent flocks to chickens if *Campylobacter* are present on the outside of the egg.

Survival of *Campylobacter* on eggs was examined by dipping eggs in broths with different concentrations of *Campylobacter* and with or without the addition of a mixture of caecal contents. The eggs were then stored in a refrigerator and analyzed for growth of *Campylobacter* at different times. Analyses were performed according to standardized methods (ISO 10272) with enrichment in Bolton broth and culture on mCCD agar. Three different sequence types of *Campylobacter jejuni* (ST-257, ST-148 and ST-918) with different origins were used in this study. *Campylobacter* could be isolated from 16 out of 90 eggs one day after dipping in a *Campylobacter* broth. On one egg, *Campylobacter* could be detected after 10 days.

Based on the results of this study, it cannot be ruled out that as a consumer there is a risk of becoming infected with *Campylobacter* via eggs, though the risk is small as there are several criteria that need to be met for this to be possible. However, the risk is greater for staff at packing plants and on farms that handle eggs shortly after they have been laid. There is also a risk that an environmental infection in, for example, a hatchery could originate from an egg contaminated with *Campylobacter*.

Keywords: *Campylobacter jejuni*, eggs, hens, chicken, survival, transmission

Innehållsförteckning

Tabellförteckning	8
Figurförteckning.....	9
Förkortningar	10
1. Inledning.....	11
2. Litteraturoversikt	12
2.1. Produktion av konsumtionsägg i Sverige.....	12
2.2. Produktion av slaktkyckling i Sverige.....	13
2.3. <i>Campylobacter</i>	13
2.4. Sjukdomsläget i Sverige och i EU.....	16
2.5. Kostnader för samhället	16
2.6. <i>Campylobacter</i> programmet	17
2.7. <i>Campylobacter</i> och konsumtionsägg.....	17
3. Material och metoder	19
4. Resultat.....	24
4.1. Överlevnad av ST-257	24
4.1.1. qPCR.....	25
4.2. Överlevnad av ST-148.....	26
4.3. Överlevnad av ST-918.....	27
4.4. Sammanfattande resultat.....	28
5. Diskussion.....	29
5.1. Konklusion	32
Referenser.....	34
Tack	38
Populärvetenskaplig sammanfattning	39
Bilaga 1.....	41

Tabellförteckning

<i>Tabell 1. Campylobacter-förekomsten i svabbprov från ägg och krossade skal från ägg doppade i olika koncentrationer av Campylobacter jejuni ST-257 med och utan blindtarmsinnehåll, påvisade med odling och konfirmerade av MALDI-TOF MS.</i>	<i>25</i>
<i>Tabell 2. Campylobacter-förekomsten i svabbprov från ägg doppade i olika koncentrationer av Campylobacter jejuni ST-257 med och utan blindtarmsinnehåll, påvisade med qPCR.</i>	<i>25</i>
<i>Tabell 3. Campylobacter-förekomsten i krossade skal från ägg doppade i olika koncentrationer av Campylobacter jejuni ST-148 med och utan blindtarmsinnehåll, påvisade med odling och konfirmerade av MALDI-TOF MS.</i>	<i>26</i>
<i>Tabell 4. Campylobacter-förekomsten i krossade skal från ägg doppade i olika koncentrationer av Campylobacter jejuni ST-918 med och utan blindtarmsinnehåll, påvisade med odling och konfirmerade av MALDI-TOF MS.</i>	<i>27</i>
<i>Tabell 5. Campylobacter-förekomsten i svabbade ägg och krossade skal från ägg doppade i olika koncentrationer av Campylobacter jejuni (alla tre sekvenstyper) med och utan blindtarmsinnehåll, påvisade med odling och konfirmerade av MALDI-TOF MS.</i>	<i>28</i>

Figurförteckning

<i>Figur 1: Kolonier av Campylobacter jejuni på mCCDA. Längden på skalstrecken motsvarar 1 cm. (www.vetbact.org)</i>	<i>15</i>
<i>Figur 2. Silning av stomacherade blindtarmar till blindtarmsbuljong.</i>	<i>22</i>
<i>Figur 3. Doppning av ägg i en låg koncentration av Campylobacter utan blindtarmsbuljong.....</i>	<i>22</i>
<i>Figur 4. Inkubering av stomacherpåsar med Boltonbuljong på nedre hyllan och till vänster, mCCDA-plattor till höger.</i>	<i>23</i>
<i>Figur 5. Campylobacter-kolonier på en mCCDA-platta med hög koncentration av C. jejuni ST-257 och blindtarmsbuljong.....</i>	<i>24</i>

Förkortningar

BB	Boltonbuljong, en selektiv buljong för anrikning av <i>Campylobacter</i> .
BHI	Brain Heart Infusion, en näringsrik buljong som används för buljongodling av bakterier.
BPV	Buffrat peptonvatten, används för icke-selektiv anrikning av bakterier.
CFU	Colony Forming Units, antalet bakterier per gram eller milliliter i ett prov.
ISO	International Organization for Standardization, en organisation som utvecklar och publicerar standardiserade metoder.
mCCDA	Modified Charcoal Cefoperozone Deoxycholate agar, en blodfri agar som används för selektiv odling av <i>Campylobacter</i> spp.
MALDI-TOF MS	Matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry. Används för identifiering av bakterieart.
PCA	Plate count agar, ett icke-selektivt medium som används för att bestämma det totala antalet levande, aeroba bakterier i ett prov.
qPCR	Quantitative Polymerase Chain Reaction, en metod för att kvantifiera DNA i ett prov.
ST	Sekvenstyp, en genetisk variant av en bakterieart.

1. Inledning

Campylobacterios är den vanligaste rapporterade orsaken till magtarminfektion hos människa i Sverige, övriga EU och i USA (EFSA and ECDC 2019; Tack 2020). *Campylobacter (C.) jejuni* subsp. *jejuni* (kommer vidare att betecknas som *C. jejuni*) är den underart som oftast orsakar campylobacterios (EFSA and ECDC 2019). Sjukdomen medför stora kostnader för samhället, upp till 629 miljoner kronor per år i Sverige (Sundström 2015). De vanligaste symtomen hos de som drabbas är diarré, kräkningar, buksmärtor och feber, men vissa personer kan även utveckla allvarliga följsjukdomar såsom irritable bowel syndrome (IBS), Guillain–Barrés syndrom (GBS) eller reaktiv artrit (EFSA and ECDC 2019).

Den vanligaste orsaken till campylobacterios är antingen kycklingkött som inte upphettats tillräckligt eller som kontaminerat andra livsmedel som inte upphettats (EFSA and ECDC 2019). Kycklingar kan ha mycket höga koncentrationer av *Campylobacter* i träcken, upp till 100 miljoner bakterier/gram träck, och det finns risk för kontamination av kycklingkött i samband med slakt (Hansson 2007). *Campylobacter* anses inte vara invasiv, det vill säga spridas från hönan till ägget (vertikal smitta) när det bildas i hönans äggledare, till skillnad mot vissa serotyper av salmonella, till exempel *Salmonella* Typhimurium och *Salmonella* Enteritidis (Timoney *et al.* 1989). Ägg har därför antagits inte vara en riskfaktor för smitta till människor. Det är däremot inte känt huruvida människor riskerar att smittas via kontamination av *Campylobacter* spp. på äggskal, eller om *Campylobacter* kan överföras från höna till kyckling via kontaminerade äggskal.

Syftet med studien var att undersöka om *Campylobacter* kan överleva på utsidan av ägg och i så fall hur länge. Resultaten kan bidra till att besvara frågeställningarna om konsumtionsägg kan orsaka campylobacterios hos människa samt om *Campylobacter* kan överföras från föräldradjur till kycklingar vid förekomst av *Campylobacter* på utsidan av ägget.

2. Litteraturöversikt

2.1. Produktion av konsumtionsägg i Sverige

De flesta konsumtionsägg som säljs i livsmedelsbutik produceras av värphöns i Sverige. Det förekommer importerade ägg som säljs i livsmedelsbutik men det är en låg andel (Svenska Ägg 2020). I Sverige producerades under 2019 148 600 ton ägg och det förbrukades 152 400 ton ägg. Av äggen som förbrukades, det vill säga konsumerades eller användes inom till exempel läkemedelsindustrin, i Sverige 2019 var 97,5 % svenska ägg (Öberg 2020).

Föräldrarna till svenska värphöns köps in från internationella avelsföretag och kommer till uppfödare i Sverige som dagsgamla kycklingar. Föräldradjuren hålls i frivillig isolering med provtagning avseende ett urval smittämnen före flytt till produktionshus där tupp- och hönlinjer korsas för att få fram värphönshybrider som används som bruksdjur. Äggen kläcks på kläckerier och levereras till unghönsuppfödare och därefter till äggproducenten när de är 15–16 veckor gamla. Det finns också äggproducenter som föder upp sina egna unghöns. Ett ägg kläcks efter ca 21 dygn (Persson 2009).

Det finns fyra olika produktionsformer för värphöns i Sverige; ekologisk produktion, frigående inomhus, inredd bur och frigående med tillgång till utevistelse. Ägg ska vara märkta med ursprungsland, anläggnings- och stallkod och produktionssätt (Rådets förordning nr 1234/2007). Ägg delas in i två klasser, klass A (färska ägg av högsta kvalitet) och klass B (ägg som inte uppfyller kraven för klass A med frånvaro av till exempel skaldefekter eller föroreningar). Ägg i klass B får inte säljas som konsumtionsägg och levereras endast till livsmedelsföretag med särskilt godkännande. Ägg som kan köpas i livsmedelsaffär är av klass A och får generellt inte tvättas. Vissa äggpackerier är dock godkända för tvättning av ägg i klass A, och dessa ägg saluförs sedan som tvättade ägg och inte klass A (Persson 2009).

Packerierna hämtar ägg på gårdarna och distribuerar dessa till handeln. Det får vara högst nio dagar mellan värpdagen och att ett ägg kommer ut i handeln. Vanligtvis hämtar packerierna ägg från gårdarna 1–2 gånger per vecka, men det finns också

större producenter där ägg hämtas varje dag, samt små äggpackerier på gårdarna där de packar sina egna ägg och ibland från enstaka andra gårdar. När ett ägg kommer till packeriet utförs en kvalitetskontroll (manuell eller maskinell inspektion och genomlysning) och sedan packas det och samlas upp i distributionslager. Därifrån körs äggen till handeln tidigast under natten eller nästa dag, vilket medför att ett ägg kommer till livsmedelsbutik tidigast en dag efter att hönan värpt ägget (Svenska Ägg 2020).

2.2. Produktion av slaktkyckling i Sverige

I Sverige konsumerades under 2018 totalt 226 490 ton fjäderfäkött i Sverige (Jordbruksverket 2021). Samma år slaktades 149 290 ton slaktkyckling i Sverige, vilket medför att import av kycklingkött måste ske för att möta konsumtionsbehovet (Jordbruksverket 2020b).

Mor- och farföräldrar till svenska slaktkycklingar importeras till Sverige då det inte finns någon inhemsk avel av ”grandparents djur”. De kommer till Sverige som dagsgamla kycklingar och hålls först i frivillig isolering med provtagning avseende ett urval smittämnen i cirka åtta veckor innan de flyttas till produktionsstall för att börja värpa ägg. Äggen transporteras till kläckerier där föräldradjuren till slaktkycklingarna sedan kläcks. Äggen som föräldradjuren i sin tur värper kläcks till slaktkycklingar och levereras till uppfödare (Svensk Fågel u.å.).

På gårdarna hålls kycklingarna i lösdriftsstallar. Djurtätheten i stallarna regleras av djurskyddslagen, där högst 36 kg djur per kvadratmeter är tillåtet. Kycklingarna föds upp på gården tills de skickas till slakt efter cirka fem veckor. De lastas med en lastmaskin och transporteras till slakteriet som gården har avtal med. På slakteriet bedövas och avlivas kycklingarna som efter bland annat skällning, urtagning av organ, kylning och vidare bearbetning såsom styckning skickas ut i handeln (Svensk Fågel u.å.).

2.3. *Campylobacter*

Campylobacterios

En infektion med en bakterie från släktet *Campylobacter* kallas campylobacterios och ger hos människor ofta en gastroenterit med diarré, kräkningar, feber och buksmärter. Infektionen brukar läka ut av sig själv men kan pågå i upp till tre veckor (Folkhälsomyndigheten 2017). I enstaka fall händer det att man drabbas av följd-

sjukdomar, såsom irritable bowel syndrome (IBS) (Thabane & Marshall 2009) vilket är tarmproblematik som kvarstår efter utläkt infektion, Guillain–Barrés syndrom som är en autoimmun polyneuropati, samt reaktiv artrit (Ang *et al.* 2007). *Campylobacterios* är sedan 2005 den vanligaste rapporterade orsaken till gastroenterit i EU (EFSA and ECDC 2019) och är anmälningspliktig i Sverige (SFS 2004:168).

Smittämne

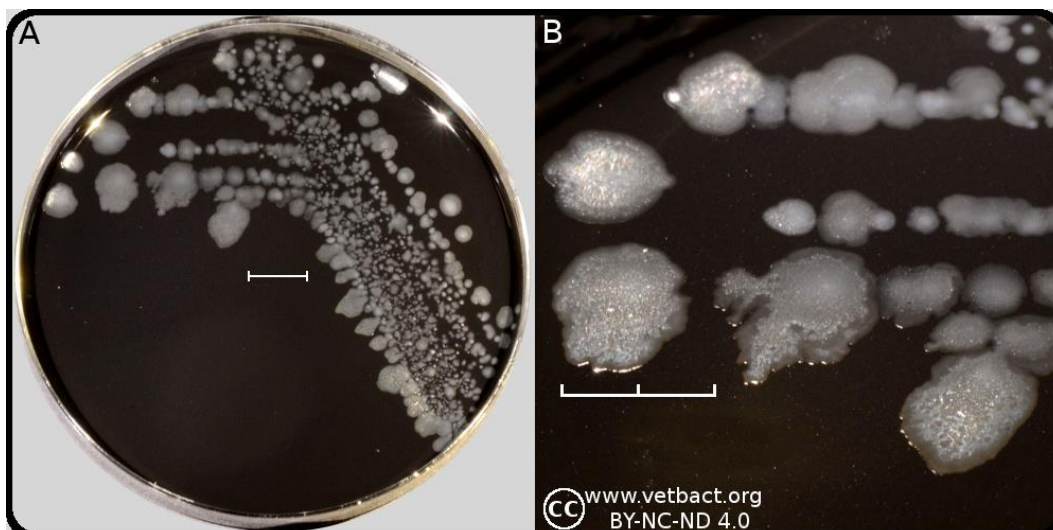
Arterna av släktet *Campylobacter* som orsakar gastroenterit hos människa är oftast termotoleranta, vilket innebär att de kan växa lika bra vid höga temperaturer, upp till 43°C, som vid 37°C. Den vanligaste arten av termotoleranta *Campylobacter* som orsakar gastroenterit är *Campylobacter jejuni*, följt av *C. coli* (EFSA and ECDC 2019). År 2019 typades 137 isolat av *Campylobacter* från sjuka människor i Sverige, där alla utom ett var *C. jejuni* (Folkhälsomyndigheten 2020). *Campylobacter jejuni* har en låg infektionsdos och experimentella studier har visat att 500–800 CFU bakterier räcker för att orsaka campylobacterios (Robinson 1981; Black *et al.* 1988). Slaktkycklingar såväl som vissa andra djurslag och djurkategorier har *C. jejuni* i tarmen utan att uppvisa sjukdomssymtom. En stor mängd *C. jejuni* utskiljs i träcken hos slaktkycklingar, upp till 10⁸ CFU/g. (Hansson 2007). *Campylobacter* spp. är vanligt förekommande hos nötkreatur. I en svensk studie påvisades *Campylobacter* i 78 % av träckprover (Hansson *et al.* 2020).

Mikromorfologi och egenskaper

Campylobacter jejuni är små gramnegativa bakterier som är böjda eller spiralformade stavar. Bakterierna är rörliga och har en flagell i ena eller båda ändarna. *Campylobacter jejuni* är mikroaerofil och behöver en syrehalt på 5–10 % och en koldioxidhalt på 1–10 % för att växa på agarplattor eller i buljong. De är oxidas- och katalaspositiva och fermenterar inte kolhydrater. Bakterierna är som tidigare nämnts termotoleranta och växer i 43°C, men växer inte vid temperaturer under 30°C. *Campylobacter jejuni* avdödas vid kokning och pastörisering (Quinn *et al.* 2011; VetBact 2020). Vissa stammar av *Campylobacter jejuni* kan bilda biofilm. I en studie från 2016 sågs 4 av 7 stammar bilda biofilm (Efimochkina *et al.* 2017).

Makromorfologi

Kolonier av *C. jejuni* på blodagarplattor är små (1–2 mm i diameter), gråa, platta med oregelbunden form men jämn kant. I vissa fall kan de svärma, det vill säga växa med stora och utflytande kolonier. På det selektiva mediet Charcoal Cefeprozone Deoxycholate agar (CCDA) blir *C. jejuni*-kolonier något större och vitare, samt har en metallisk glans. (Figur 1)



Figur 1: Kolonier av *Campylobacter jejuni* på mCCDA. Längden på skalstrecken motsvarar 1 cm. (www.vetbact.org)

Smittvägar

Campylobacter utsöndras via träck hos djur och människor. De vanligaste orsakerna till att människor drabbas av campylobacterios är konsumtion av kontaminerad kyckling/kycklingprodukter, mjölkprodukter och vatten (Studahl & Andersson 2000; Zambrano *et al.* 2014; EFSA and ECDC 2019). Andra förekommande smittvägar är direktkontakt med djur.

Faktorer som påverkar förekomst av *Campylobacter* i slaktkycklingflockar är komplexa och delvis oklara. Några exempel på riskfaktorer är andra animalieproducerande djur på gården eller inom 1 km avstånd, endast en hygienbarriär med ett skobyte innan man kommer in i djurutrymmet (istället för två som är brukligt), samt bristande allmän ordning på gården (Hansson *et al.* 2010). Nötkreatur i närheten av gården, dåligt rengjorda transportlådor och vattendrag såsom dammar i närheten av gården har också visats vara potentiellt viktiga reservoarer (Frosth *et al.* 2020). I studien av Frosth *et al.* isolerades samma sekvenstyper av *Campylobacter* från flera flockar efter varandra i samma avdelning, vilket tyder på att bakterier har förmåga att överleva i eller utanför kycklingstallarna och kan smitta nästkommande kycklingflock. Sekvenstypning är en metod som används vid smittspårning, genom att kartlägga delar av bakteriers genom för att se vilka isolat som är närbesläktade. Slutsatsen från studien är att smittvägar för *Campylobacter* är komplexa och skiljer sig mellan besättningar, och att preventiva åtgärder behöver anpassas för varje enskild gård.

Tidigare studier har inte hittat evidens för att *Campylobacter* kan smitta vertikalt, det vill säga genom att bakterier överförs inuti kläckägget från hönan till hennes

kycklingar (Shanker *et al.* 1986; Callicott *et al.* 2006). I i en nyligen publicerad svensk studie har dock samma sekvenstyp av *C. jejuni* (ST-148) påvisats hos en flock föräldradjur och dess avkommor, vilket indikerar att en överföring via ägg är möjlig (Frosth *et al.* 2020).

2.4. Sjukdomsläget i Sverige och i EU

I Sverige rapporterades 6 693 fall av campylobacterios hos människa under 2019. Det var det lägsta antalet fall sedan 2007. Det högsta antalet mellan åren 2007 och 2019 var under 2016 då 11 021 fall rapporterades. Antalet fall år 2019 i Sverige motsvarar en incidens på 64,8 per 100 000 invånare. Av de rapporterade fallen under 2019 beräknas 44 % blivit smittade i Sverige (Folkhälsomyndigheten 2019).

I EU rapporterades 246 571 fall av campylobacterios hos människa år 2018. Detta motsvarade en incidens på 64,1 per 100 000 invånare. Antal rapporterade och bekräftade fall ökade inom EU fram till 2014, mellan 2014 och 2018 var antalet fall dock relativt stabilt (EFSA and ECDC 2019). Det finns dock ett stort mörkertal av fall där insjuknade människor inte har uppsökt vård, där provtagning inte utförts eller där bakterien inte har påvisats. I olika studier har man uppskattat att antalet faktiska fall i Sverige är ca 9-10 gånger högre än antalet rapporterade fall (Socialstyrelsen 2013; Sundström 2015).

Det finns en säsongsvariation i antalet rapporterade fall hos människor där antal fall i Sverige stiger under sommarmånaderna (Folkhälsomyndigheten 2020). Den säsongsmässiga ökningen av humana fall korrelerar med andelen slaktgrupper med slaktkycklingar där *Campylobacter* påvisats (SVA 2019). Denna säsongsvariation förekommer även i ett flertal andra länder (EFSA and ECDC 2019).

2.5. Kostnader för samhället

Att beräkna kostnader för samhället till följd av campylobacterios hos människor är komplext. Hänsyn behöver tas till kostnaden för vården av varje enskilt fall, kostnader för eventuella följsjukdomar (direkta kostnader) och produktionsbortfall när personer är hemma från sitt arbete (indirekta kostnader). Utöver detta tillkommer också immateriella kostnader, såsom lidande och dödsfall. Två studier som undersökte direkta och indirekta kostnader för campylobacterios och följsjukdomen GBS rapporterade att den årliga kostnaden uppgick till 253 miljoner kronor (Wret-

born, C 2010) respektive 233 miljoner kronor (Dovärn 2009). En annan studie räknade utöver detta in följsjukdomarna IBS och reaktiv artrit och rapporterade resultatet 629 miljoner kronor per år (Sundström 2015).

Campylobacterios är totalt sett den dyraste livsmedelsburna infektionen för samhället i Sverige. Sjukdomen utgör 60 % av de totala kostnaderna för de fem vanligaste livsmedelsburna infektionerna (Sundström 2015).

2.6. *Campylobacter*programmet

Det svenska *campylobacter*programmet påbörjades år 1991 på initiativ av Svensk Fågel, som är branschorganisationen för matfågelnäringen i Sverige. Programmet finansieras huvudsakligen av Jordbruksverket och Svensk Fågel, med Svensk Fågel som huvudman. Mellan 2001 och 2005 delfinansierades också programmet av EU-kommissionen. Syftet med programmet är att minska antalet kycklingar med *Campylobacter* genom preventiva åtgärder i primärproduktionen (Jordbruksverket 2020a; Svensk Fågel 2020a; Hansson 2007). Vissa slakterier har ett system där producenterna får avdrag om flocken som levererats till slakt har *Campylobacter* (Hansson *et al.* 2015). Förekomst av termotoleranta *Campylobacter* hos slaktfjädrfä är anmälningspliktig i Sverige (SJVFS 2012:24).

Under 2019 provtogs 4 312 slaktgrupper med slaktkycklingar. Bland dessa kunde *Campylobacter* påvisas hos 4,6 %, vilket är det lägsta resultatet sedan starten av *Campylobacter*programmet 1991 (Svensk Fågel 2020b).

2.7. *Campylobacter* och konsumtionsägg

Campylobacter har påvisats från ägg som varit i kontakt med *Campylobacter*, till exempel på insidan av ägg i upp till 3 timmar efter kontakt med träflisor kontaminerade med *Campylobacter*. Bakterien kunde dock inte isoleras från äggulan (Fonseca *et al.* 2014). *Campylobacter* har påvisats vid provtagning av insidan av skalet och de inre och yttre skalmembranen upp till 72 timmar efter kontamination, när äggen hölls i 37°C och sedan flyttades till en 4°C kyl 10 minuter efter kontamination (Doyle 1984). *Campylobacter* har i en annan studie setts överleva på skalytan och på insidan av skalet i upp till 6 timmar efter kontaminering på utsidan av skalet med en lösning innehållande *Campylobacter*. En timme efter kontaminering öppnades äggen och spolades ur med koksalt, dessa fylldes sedan med blodagar och analyserades efter hand (Neill *et al.* 1985).

*Campylobacter*s förmåga att penetrera in till och överleva i äggvitan har visats vara begränsad. Tidigare studier tyder på att när ägg kontaminerats med *Campylobacter* på skalet har *Campylobacter* inte kunnat påvisas i äggvitan (Doyle 1984) eller i äggulan (Paula *et al.* 2009). *Campylobacter* har däremot visats ha god överlevnad i äggulan vid direkt inokulering (upp till 14 dagar) men sämre överlevnadsförmåga i äggvita och luftblåsan (<8 dagar) (Sahin *et al.* 2003). *Campylobacter* har också kunnat påvisas på ägg som varit i kontakt med träck kontaminerat med *Campylobacter*. Av 70 ägg som blivit kontaminerade med 1 g träck på skalet påvisades *Campylobacter* på utsidan av 47 ägg (Shane *et al.* 1986). Träcken innehöll en koncentration av *Campylobacter* som är relativt lik den som setts utsöndras i träcken hos kyckling, $1,35 \cdot 10^8$ CFU/g. Förekomst av *Campylobacter* analyserades med ett par timmars intervall upp till 23 timmar, och *Campylobacter* kunde påvisas upp till 16 timmar efter kontamination. Tre av sjuttio ägg som undersöktes hade *Campylobacter* på insidan av äggskalet i upp till två timmar efter kontaminering. Ett av sjuttio ägg hade *Campylobacter* i innehållet efter homogenisering två timmar efter kontaminering (Shane *et al.* 1986).

Förmåga till vertikal smittspridning av *Campylobacter* har antagits vara begränsad. Ägg kontaminerades med *Campylobacter* på skalet i en studie för att se graden av överföring till kläckta kycklingar (Shanker *et al.* 1986). *Campylobacter* kunde inte påvisas hos någon av de kläckta kycklingarna. När ägg istället injicerades med *Campylobacter* in i äggvitan kunde *Campylobacter* påvisas hos två av tolv kläckta kycklingar. Shanker *et al.* drog slutsatsen att det inte är troligt att *Campylobacter* kan överföras på detta sätt till avkomman under kommersiella förhållanden. I ett annat försök i samma studie undersöktes ägg från föräldradjur med *Campylobacter* för förekomst av *Campylobacter*, 185 av 187 ägg hade inte *Campylobacter* på insidan av skalet. De två äggen med *Campylobacter* hade samlats in från marken och var synligt smutsiga, och hade inte levererats till kläckeriet (Shanker *et al.* 1986). Vertikal smittspridning undersöktes även i den tidigare nämnda studien av Neill *et al.* (1985), där det inte sågs en signifikant ökad mortalitet hos embryon i ägg som blivit kontaminerade på utsidan med en lösning av *Campylobacter*. *Campylobacter* påvisades inte heller i äggens innehåll där kycklingen dött i förtid eller i tarminnehåll hos kycklingar som kläckts normalt, vilket ledde till tolkningen att det är osannolikt att smittspridning från höna till kyckling via ägg kan ske (Neill *et al.* 1985).

3. Material och metoder

I studien användes ägg från en svensk fjäderfäanläggning med föräldradjur till slaktkycklingar där *Campylobacter* inte kunde påvisas hos hönsen vid provtagning ca en vecka innan insamling av äggen. Provtagningen gjordes genom att sockprov togs och de analyserades enligt ISO 10272:1 dvs genom anrikning i Boltonbuljong före odling på selektiva agar plattor (mCCDA).

Isolat av tre olika sekvenstyper av *Campylobacter jejuni* användes i studien; ST-257, ST-148 och ST-918. Studien delades upp i tre omgångar där varje sekvenstyp analyserades var för sig för att undvika kontamination. Sekvenstyp ST-257 hade tidigare isolerats från en vattenledning i ett kycklingstall, ST-148 hade isolerats från föräldradjur och ST-918 från en transportlåda efter rengöring på slakteriet (Frosth *et al.* 2020). Isolaten togs upp från frys (-70°C) där de förvarats i Brain Heart Infusion (BHI)-buljong (CM1135; Oxoid) med 15 % glycerol. Isolaten renodlades två gånger på hästblodagarplattor (SVA, Uppsala, Sweden) och inkuberades i 37°C i 48 ± 4 h i mikroaerob atmosfär skapad av CampyGen™ (CN0025, Oxoid, Basingstoke, UK). Därefter odlades de i BHI-buljong med tillsatt serum i tre rör á 15 ml vilka inkuberades i 37 °C i 48 ± 4 h. Efter inkubering homogeniserades innehållet i rören varav 10 ml av anrikningsskulturen blandades med 90 ml buffrat peptonvatten (BPV). En tiofaldig spädningsserie gjordes i peptonvatten (Dilucups, Lab-Robot Products AB, Stenungsund, Sverige) för att få spädningar upp till -7.

En blindtarmsbuljong gjordes av blindtarmsinnehåll från 10 kycklingar uttagna efter slakt (Kronfågel, Valla). Blindtarmarna klipptes i 1 cm långa bitar vilka fördelades i 5 Stomacherpåsar (Blender bags Standard 400, Grade products, Leicestershire, England), med klipp från 2 blindtarmar i varje påse. I varje påse tillsattes 100 ml BPV och blandningen homogeniserades maskinellt (easyMIX Lab Blender, AES-Chemunex, Weber Scientific, Hamilton, New Jersey, USA) i 240 rpm i 2 min BPV med blindtarmar silades och hälldes tillsammans i en bägare (Fig 2) och blandades med ytterligare 100 ml BPV, vilket resulterade i 600 ml BPV med blindtarmsinnehåll. Innehåll från de fem olika påsarna odlades på varsin mCCDA-platta (Oxoid CM0739, Basingstoke, UK) vilka inkuberades i 37°C i 48 ± 4 h i mikroaerob atmosfär för att undersöka om blindtarmarna innehöll *Campylobacter* eller ej. En bakterieräkning gjordes på den färdiga blindtarmslösningen genom djupspridning på

plate count agar (PCA), (Oxoid, Basingstoke, UK) för att beräkna antalet aeroba bakterier i lösningen.

Sju olika buljonger användes i studien, vilka blandades i bägare; hög, medelhög och låg koncentration av *Campylobacter* utan blindtarmsinnehåll; hög, medelhög och låg koncentration av *Campylobacter* med blindtarmsinnehåll, samt en negativ kontroll utan *Campylobacter*. De höga koncentrationerna gjordes genom att blanda 20 ml av den ospädda bakteriekulturen med 130 ml BPV eller 130 ml blindtarmsbuljong. För medelhög koncentration användes 2 ml från spädning -1 vilket blandades med 18 ml BPV (spädd 100 gånger) och som sedan blandades med 130 ml BPV respektive 130 ml blindtarmsbuljong. För låg koncentration användes 2 ml från spädning -3 vilket blandades med 18 ml BPV (spädd 10^4 gånger) och som sedan blandades med 130 ml BPV respektive 130 ml blindtarmsbuljong. Den negativa kontrollen bestod av en bägare med 130 ml blindtarmsbuljong blandat med 20 ml BPV. Bakterieräkning avseende koncentration *Campylobacter* i respektive bägare gjordes med hjälp av ytspridning av 0,1 ml av de ursprungliga spädningarna på hästblodagarplattor vilka inkuberades i 37°C i 48 ± 4 h i mikroaerob atmosfär. Efter inkubering beräknades mängden (CFU/ml) *Campylobacter* i respektive bägare.

Äggen doppades i de sju olika buljongerna (Fig 2), tre ägg doppades i den negativa kontrollen och i de övriga buljongerna doppades fem ägg i vardera buljong. Totalt doppades 132 ägg i varje sekvenstyp, vilket resulterade att ca 400 ägg användes i studien. Dessutom doppades några extra ägg i varje buljong vilka fungerade som en säkerhet om något av äggen skulle gå sönder. Äggen hölls skilda från varandra efter doppning genom att de förvarades i separata äggkartonger för respektive buljong de doppats i. Första dygnet var äggen i rumstemperatur, därefter flyttades de till en kyl där de förvarades tills respektive ägg skulle analyseras.

Första omgången av ägg kontaminerades med ST-257 och analyserades avseende växt av *C. jejuni* 1, 7 och 14 dygn efter doppningen. Dag 1 efter doppning tillämpades svabbning av äggen. Två sterila kompresser fuktades med 30 ml Cary Blair-buljong (SVA321645, Uppsala, Sverige) och svabbades över hela äggets yta. Kompresserna lades i en Stomacherpåse varpå 50 ml Boltonbuljong (CM0983; Oxoid, Basingstoke, UK) med Bolton Broth Selective Supplement (SR0208E; Oxoid). Dessa inkuberades i $37.0 \pm 1^\circ\text{C}$ i 4–6 h i en mikroaerob atmosfär med hjälp av Campygen™ (Oxoid, Basingstoke, UK), följt av inkubering i $41.5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ i 44 ± 4 h (Fig 3). Ägget som hade svabbats kasserades sedan, och vid nästa analystillfälle svabbades nya ägg. 20 ägg doppades i varje buljong och vid varje analystillfälle analyserades 5 ägg från varje buljong samt tre från den negativa kontrollen.

Vid andra analystillfället, åtta dagar efter dopping utökades analyserna. Äggen svabbades som beskrivits ovan och dessutom tömdes äggen på innehåll och skalen från äggen lades i en annan Stomacherpåse och analyserades separat. Efter svabbningen knäcktes äggen och tömdes på innehåll. Skalet placerades sedan i en Stomacherpåse och krossades från utsidan av påsen för hand med handskar på, varpå 50 ml Boltonbuljong tillsattes. Dessa inkuberades i $37.0 \pm 1^\circ\text{C}$ i 4–6 h i en mikroaerob atmosfär, följt av inkubering i $41.5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ i 44 ± 4 h (Fig 3). Handskar byttes mellan hantering av nytt ägg. Vid resterande analystillfälle från omgång 1 (15 dagar efter dopping) tillämpades både svabbning och krossning av skalen.

Vid andra och tredje omgångarna, då ST-148 och ST-918 analyserades, ändrades analystillfällena av äggen till 1, 4, 7 och 10 dygn efter dopping. Enbart krossning av skalen användes som analysmetod för dessa sekvenstyper.

Efter inkubering av Stomacherpåsarerna med Boltonbuljong och analysmaterial togs två blåa öglor (ca 20 μl) av lösningen och ströks på mCCDA-plattor vilka inkuberades i $41.5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ i 44 ± 4 h i en mikroaerob atmosfär (Fig 3).

Gråvita kolonier med metallglans och jämn men oregelbunden kant bedömdes som trolig växt av *Campylobacter* spp. och konfirmerades med MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Billerica, Massachusetts, USA). För att bekräfta förekomst av *Campylobacter* gjordes qPCR (quantitative Polymerase Chain Reaction) på Boltonbuljongen från de ägg i omgång 1 (ST-257) som analyserats 1 dygn efter dopping. I försöket användes primers från en tidigare studie som undersökte PCR-analys av *Campylobacter* direkt från odlingsplattor (Best *et al.* 2003).



Figur 2. Silning av stomacherade blindtarmar till blindtarmsbuljong.



Figur 3. Doppning av ägg i en låg koncentration av Campylobacter utan blindtarmsbuljong.



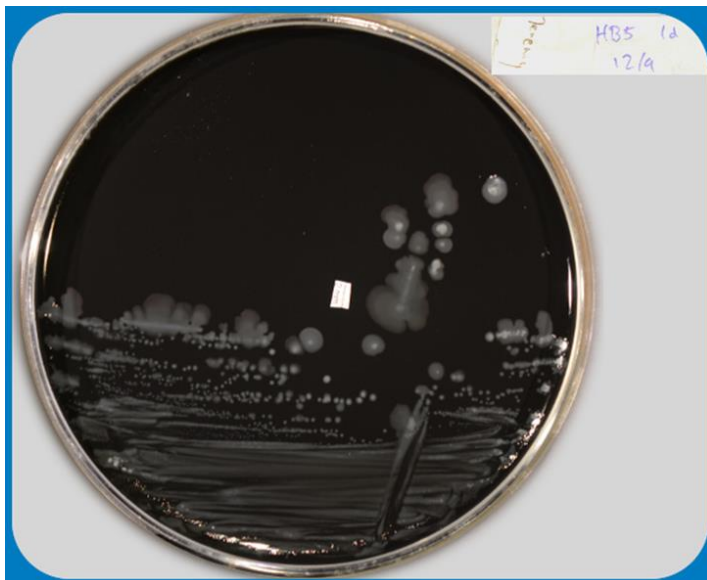
Figur 4. Inkubering av stomachpåsar med Boltonbuljong på nedre hyllan och till vänster, mCCDA-plattor till höger.

4. Resultat

4.1. Överlevnad av ST-257

I anrikningskulturen av *Campylobacter*-buljongen fanns $6,1 \cdot 10^8$ CFU/ml. Detta innebär att de olika koncentrationerna av *Campylobacter* som äggen doppades i var $4,9 \cdot 10^7$ CFU/ml (hög), $4,9 \cdot 10^5$ CFU/ml (medelhög) respektive $4,9 \cdot 10^3$ CFU/ml (låg). Resultatet från bakterieräkningen av blindtarmsbuljongen visade att totalantalet bakterier var $2,3 \cdot 10^7$ CFU/ml. *Campylobacter* kunde inte påvisas i något av proverna från blindtarmarna.

Campylobacter kunde påvisas i två av fem ägg, en dag efter doppning i buljongen med hög koncentration och blindtarmsinnehåll. Ett av dessa resultat illustreras nedan (Figur 5). Att det var *Campylobacter jejuni* som påvisats konfirmerades med MALDI-TOF MS. *Campylobacter* spp. kunde dock inte påvisas i något av de övriga svabbproven (Tabell 1).



Figur 5. *Campylobacter*-kolonier på en mCCDA-platta med hög koncentration av *C. jejuni* ST-257 och blindtarmsbuljong.

Tabell 1. *Campylobacter*-förekomsten i svabbprov från ägg och krossade skal från ägg doppade i olika koncentrationer av *Campylobacter jejuni* ST-257 med och utan blindtarmsinnehåll, påvisade med odling och konfirmerade av MALDI-TOF MS.

ST-257 MALDI- TOF MS	Låg	Låg + Blind- tarm	Medel- hög	Medelhög + Blindtarm	Hög	Hög + Blind- tarm	Kontroll
Dag 1	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	2/5	0/3
Dag 7	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/3
Dag 14	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/3

4.1.1. qPCR

Vid analys med hjälp av qPCR kunde *Campylobacter* påvisas i samtliga prover från ägg som doppats i hög och medelhög koncentration, samt från ett ägg som doppats låg koncentration med blindtarmsinnehåll (Tabell 2).

Tabell 2. *Campylobacter*-förekomsten i svabbprov från ägg doppade i olika koncentrationer av *Campylobacter jejuni* ST-257 med och utan blindtarmsinnehåll, påvisade med qPCR.

ST-257 qPCR	Låg	Låg + Blind- tarm	Medel- hög	Medelhög + Blindtarm	Hög	Hög + Blind- tarm	Kontroll
Dag 1	0/5	1/5	5/5	5/5	5/5	5/5	0/3

4.2. Överlevnad av ST-148

I anrikningskulturen av *Campylobacter*-buljongen fanns $5,1 \cdot 10^6$ CFU/ml. Detta innebär att de olika koncentrationerna av *Campylobacter* som äggen doppades i fanns $3,9 \cdot 10^5$ CFU/ml (hög), $3,9 \cdot 10^3$ CFU/ml (medelhög) respektive $3,9 \cdot 10^1$ CFU/ml (låg). Resultatet från bakterieräkningen av blindtarmsbuljongen visade att totalantalet bakterier var $7,7 \cdot 10^6$ CFU/ml. *Campylobacter jejuni* kunde påvisas i fyra av fem blindtarmsprover.

Campylobacter kunde påvisas en dag efter doppning i äggskalen från tre av fem ägg som doppats i hög koncentration utan blindtarmsbuljong och fyra av fem ägg som doppats i hög koncentration med blindtarmsinnehåll. Att det var *Campylobacter jejuni* som påvisats konfirmerades med MALDI-TOF MS. *Campylobacter* spp. kunde dock inte påvisas i något av de övriga proven från äggskal (Tabell 3).

Tabell 3. *Campylobacter*-förekomsten i krossade skal från ägg doppade i olika koncentrationer av *Campylobacter jejuni* ST-148 med och utan blindtarmsinnehåll, påvisade med odling och konfirmerade av MALDI-TOF MS.

ST-148 MALDI- TOF MS	Låg	Låg + Blind- tarm	Medel- hög	Medelhög + Blind- tarm	Hög	Hög + Blind- tarm	Kontroll
Dag 1	0/5	0/5	0/5	0/5	3/5	4/5	0/3
Dag 4	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/3
Dag 7	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/3
Dag 10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/3

4.4. Sammanfattande resultat

För en tydligare överblicksbild sammanställs resultaten av odling och MALDI-TOF MS för de tre olika sekvenstyperna (Tabell 5) från dag 1.

Tabell 5. Campylobacter-förekomsten i svabbade ägg och krossade skal från ägg doppade i olika koncentrationer av Campylobacter jejuni (alla tre sekvenstyper) med och utan blindtarmsinnehåll, påvisade med odling och konfirmerade av MALDI-TOF MS.

ST-257, ST-148 och ST-918 MALDI-TOF MS	Låg och Låg + Blindtarm	Medelhög och Medelhög + Blindtarm	Hög och Hög + Blindtarm	Kontroll
Dag 1	0/30	1/30	16/30	0/9
Dag 4	0/20	0/20	0/20	0/6
Dag 7	0/30	0/30	0/30	0/9
Dag 10	1/20	0/20	0/20	0/6
Dag 14	0/10	0/10	0/10	0/3

5. Diskussion

Denna studie undersökte överlevnaden av *Campylobacter* på ägg efter att de doppats i buljonger innehållande olika koncentrationer av *Campylobacter*, samt med och utan buljong med blindtarmsinnehåll som skulle simulera nedsmutsade ägg. Syftet var att undersöka om det finns en risk för överföring av *Campylobacter* till konsumenter eller till kycklingflockar vid överlevnad av *Campylobacter* på ägg, eller om risk för vertikal smitta finns samt överföring från ägg till miljön. Äggen doppades i en buljong innehållande *Campylobacter* för att simulera att de hade värpts av en höna med *Campylobacter* i träcken. Äggen förvarades i rumstemperatur i ett dygn och sedan i kyl för att simulera hur de först förvaras efter värpning, i affär och slutligen förvaring hemma hos konsumenten (oftast i kyl).

Av alla ägg som doppades i lösningarna med hög koncentration, med eller utan blindtarmsinnehåll, kunde *Campylobacter* påvisas från 16 av 30 (53 %) ägg efter ett dygn. För ägg som doppades i medelhög koncentration, med eller utan blindtarmsinnehåll kunde *Campylobacter* påvisas från 1 av 30 (3 %) ägg efter ett dygn. Att det är en större andel av äggen som doppades i någon av lösningarna med hög koncentration som *Campylobacter* kunde påvisas från var ett väntat resultat och beror sannolikt på att det är fler *Campylobacter* i hög koncentration och större sannolikhet att bakterier överlever än i medelhög och låg koncentration. Det är därmed större risk att det är fler *Campylobacter* som överlever tills provtagning sker. Det är i teorin 100 gånger fler CFU/g av *Campylobacter* i hög koncentration än i medel.

Ett avvikande resultat sågs i omgång 3 med ST-918, då *Campylobacter* påvisades i provet från ett ägg efter 10 dagar när ägget hade doppats i låg koncentration av *Campylobacter*. Detta är anmärkningsvärt eftersom bland de övriga positiva äggen var 16/17 doppade i hög koncentration och ett i medelhög. *Campylobacter* har i tidigare studier setts överleva längre perioder på och i ägg, upp till 3 dygn på skalmembranen och insidan av skalet (Doyle 1984) och upp till 8 dygn i äggvitan (Sahin *et al.* 2003). Att *Campylobacter* skulle kunna överleva på ägg i upp till 10 dagar är därmed inte otänkbart.

Viabla *Campylobacter* har i detta försök kunnat påvisas på äggskal ett dygn efter doppning i en buljong med *Campylobacter*. Koncentrationerna av *Campylobacter* i buljongerna som äggen har doppats ligger på samma eller lägre koncentrationen

av *Campylobacter* som kan ses i träck hos fjäderfä, det vill säga 10^8 CFU/g träck (Hansson 2007), vilket talar för att en överföring via ägg kan ske om värphönan urskiljer *Campylobacter* i träcken. Detta resultat ligger också i linje med resultaten från en annan studie, där ägg kontaminerats med en liknande koncentration *Campylobacter* och påvisats på utsidan av ägg (Shane *et al.* 1986), dock endast upp till 16 timmar efter kontamination. I studien av Shane *et al.* (1986) analyserades dock inga ägg efter 23 h. I den tidigare nämnda studien från Neill *et al.* (1985) överlevde *Campylobacter* bara upp till sex timmar. Kontamineringen av ägg skedde på liknande sätt i studien av Neill *et al.* (1985) som i detta försök, med doppning i en lösning innehållande *Campylobacter*. En stor skillnad var dock steget i studien från Neill *et al.* (1985) där äggen spolades ur och fylldes med blodagar. Detta kan ha påverkat överlevnaden av *Campylobacter* negativt jämfört med att öppna äggen först vid tillfället för analys som i detta försök, då *Campylobacter* som tidigare nämnt kan överleva i skalmembran i upp till 3 dygn (Doyle 1984).

Resultaten av qPCR av äggen i omgång 1 efter första dygnet skiljde sig markant från resultatet av odlingarna. *Campylobacter* kunde påvisas hos samtliga ägg från dag 1 som doppats i någon hög eller medelhög koncentration samt ett ägg som doppats i låg koncentration. Anledningen att resultatet från qPCR skiljer sig så mycket kan vara att *Campylobacter* funnits i provet men inte växt i Boltonbuljongen eller på plattan på grund av att de varit nedsatta (viable but not culturable) eller döda eller att man har missat att få med bakterierna vid överföring till mCCD-agar. Det sistnämnda är mindre sannolikt då odlingen skett med en välkänd, standardiserad metod (ISO 10272:1). En annan orsak till skillnaden kan vara att det skiljer hur stor mängd av Boltonbuljongen som tas för respektive metod, cirka 20 μ l för odling och 2 ml för qPCR, 100 gånger mer boltonbuljong till qPCR. qPCR mäter förekomst av bakterierna men inte om de är viabla. Om det är så att de finns på ägget ett dygn efter kontamination men inte är viabla borde det inte finnas risk att smittas av det ägget.

Koncentrationerna av *Campylobacter* i buljongerna skiljde sig något mellan de olika isolaten, något som speglar koncentration i anrikningskulturerna. I anrikningskulturen för ST-257 fanns det cirka 100 gånger fler CFU av *Campylobacter* än i ST-148. Detta kan i sin tur bero på att det funnits en likvärdig koncentration av bakterier i den ursprungliga buljongen men att ST-148 tillväxt i anrikningskulturen varit sämre av någon anledning. I övrigt var koncentrationerna av *Campylobacter* i de olika buljongerna önskvärda, då den höga koncentrationen var jämförbar med koncentrationer av *Campylobacter* som visats i träck hos fjäderfä.

Anledningen att blindtarmsinnehåll användes i vissa av buljongerna var att simulera smutsiga ägg och för att se om *Campylobacter* överlevde bättre på dessa jämfört

med rena (Shane *et al.* 1986). Blindtarmarna som användes i omgång 2 och 3 innehöll oväntat *Campylobacter*, men inga av äggen som doppades i kontrollösningen var positiva för *Campylobacter*. Detta bedöms därför inte ha påverkat det slutliga resultatet.

När ett ägg kommer till ett packeri skickas det till livsmedelsbutiker under natten eller dagen efter (Svenska Ägg 2020). Om ett ägg läggs strax innan det hämtas av packeriet innebär det att ägget kan hamna i handeln redan ett dygn efter värpning. Eftersom *Campylobacter* i denna studie observerats överleva på äggskal i upp till ett dygn så finns möjligen en risk för att bli smittad av *Campylobacter* vid hantering av ägget. Det är dock osannolikt att detta skulle ske då det är många kriterier som behöver uppfyllas. Ägget behöver hämtas från gården samma dag som det värps, vilket de flesta ägg inte gör. Det behöver värpas av en höna som urskiljer *Campylobacter* i träcken samt att ägget behöver kontamineras av träck i tillräcklig grad, men utan att kontamineras så mycket att ägget klassas som klass B och inte går till handel. För att en konsument ska riskera att bli smittad av ägget behöver ägget också komma ut i butik inom dagen efter värpning, och hanteras av konsumenten. Risken är då större för personalen på packerier och på värphönsanläggningar som hanterar ägg inom ett kortare tidsspann efter värpning och som hanterar ägg av klass B. Risken att smittas av *Campylobacter* av att hantera ägg är därmed troligen mycket låg, men det går inte att utesluta helt. Om ägget som *Campylobacter* påvisats hos efter tio dagar i den här studien hade viabla *Campylobacter* på eller i skalet skulle risken för att bli smittad via hantering av ägg ökas markant, då kriterierna för att ägget ska komma ut i handeln snabbt inte behöver uppfyllas i samma grad. Då det bara var ett ägg som testade positivt efter mer än ett dygn går det inte att dra några slutsatser om detta.

Om *Campylobacter* finns på ett ägg skulle det kunna överföras till miljön. Detta skulle kunna utgöra en risk för en miljösmitta på kläckerier. *Campylobacter* har visats kunna överleva i miljön i slaktkycklingstallar och smitta nästkommande flock. *Campylobacter* har också påvisats i transportlådor från slakterier, vilket tyder på att bakterierna överlevt rengöringen av transportlådor på slakteriet eller att rengöringen har varit undermålig (Frosth *et al.* 2020). Om ett ägg kontaminerat med *Campylobacter* kommer till ett kläckeri skulle *Campylobacter* kunna spridas till miljön, och på så vis spridas vidare inom kläckeriet och föras vidare till kycklingar.

Tidigare studier har dragit slutsatsen att sannolikheten att en höna skulle föra över *Campylobacter* till sin kyckling via ägget (vertikal smitta) är mycket låg (Neill *et al.* 1985; Shanker *et al.* 1986). *Campylobacter* har heller inte kunnat påvisas i äggvitan eller äggulan efter kontamination på utsidan av ägget (Doyle 1984; Paula *et al.* 2009; Fonseca *et al.* 2014). Resultaten i detta försök pekar inte heller på att

spridning av *Campylobacter* från höna till kyckling via ägget är sannolik. Om *Campylobacter* överlever i upp till 1 dag på utsidan av ägg är det osannolikt att detta skulle smitta kycklingen, då den kläcks efter 21 dagar. Däremot finns som tidigare nämnt en risk att ett ägg orsakar en miljösmitta på till exempel ett kläckeri, och kan då via miljön smitta den nykläckta kycklingen. Om *Campylobacter* kan överleva i upp till 10 dagar på ägg skulle denna risk öka.

Framtida studier om överlevnad av *Campylobacter* på ägg behövs, och ett ännu snävare analysintervall, till exempel 1, 2 och 3 dygn, hade eventuellt kunnat ge mer relevanta resultat. Det hade även varit lämpligt att provta äggen senare än efter tio dagar för att se om de kan överleva ännu längre.

Campylobacter påvisades på färre ägg i omgång 1 (2) än i omgång 2 (7) och omgång 3 (9), trots att bakterieräkningen visade att *Campylobacter*-buljongen i denna omgång hade högst koncentration viabla bakterier. Detta kunde bero på att ST-257 har sämre överlevnad på äggskal jämfört med ST-148 och ST-918, till exempel om den skulle ha sämre förmåga att bilda biofilm eller att den är känsligare för uttorkning. Olika stammar av *C. jejuni* har tidigare visats skilja sig åt avseende förmåga att bilda biofilm (Efimochkina *et al.* 2017). ST-918 har isolerats från en transportlåda efter rengöring på ett slakteri (Frosth *et al.* 2020), något som tyder på att det är en relativt motståndskraftig sekvenstyp och kan därför ha lättare att överleva på ägg.

Provtagningsintervallen ändrades mellan omgång 1 (1, 7 och 14 dagar) och omgång 2 (1, 4, 7, 10). Detta gjordes då växt av *Campylobacter* endast sågs på provtagningar från ägg 1 dag efter kontamination, för att få fler möjligheter att upptäcka vilken dag bakterierna överlevde till. Analysmetoden ändrades också från svabbning av skalet till att knäcka ägget och analysera skalet i buljong. Hypotesen var att om bakterier överlevde i porer i äggen eller på de inre skalmembranen så har odling direkt från skalen en större chans att upptäcka bakterierna jämfört med att svabba på äggskalets yta och odla från svabben.

5.1. Konklusion

Sammanfattningsvis har denna studie visat att *Campylobacter* kan överleva på ägg i åtminstone 1 dygn efter kontamination, och möjligen upp till 10 dygn i enstaka fall. Även om den verkliga överlevnadsgraden hos *Campylobacter* på ägg under kommersiella förhållanden bara är 1 dygn utgör detta ändå en risk främst för personal på äggpackerier och kläckerier men även i undantagsfall för konsumenter att bli smittade av *Campylobacter*. *Campylobacter* verkar inte kunna överleva på ett ägg från värpning till dess att det kläcks (21 dygn) och då överförs till kycklingen.

Däremot kan ett ägg som skickas till ett kläckeri i teorin ha *Campylobacter* på ytan som sprids till miljön och sedan till kycklingen när den kläckts. Fler studier behövs för att undersöka om *Campylobacter* kan överleva på ägg i en längre tid och för att specificera brytpunkten då de flesta *Campylobacter* dör.

Referenser

- Ang, C.W., Krogfelt, K., Herbrink, P., Keijser, J., van Pelt, W., Dalby, T., Kuijf, M., Jacobs, B.C., Bergman, M.P., Schiellerup, P. & Visser, C.E. (2007). Validation of an ELISA for the diagnosis of recent *Campylobacter* infections in Guillain–Barré and reactive arthritis patients. *Clinical Microbiology and Infection*, 13 (9), 915–922. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01765.x>
- Best, E.L., Powell, E.J., Swift, C., Grant, K.A. & Frost, J.A. (2003). Applicability of a rapid duplex real-time PCR assay for speciation of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* directly from culture plates. *FEMS Microbiology Letters*, 229 (2), 237–241. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(03\)00845-0](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(03)00845-0)
- Black, R.E., Levine, M.M., Clements, M.L., Hughes, T.P. & Blaser, M.J. (1988). Experimental *Campylobacter jejuni* infection in humans. *The Journal of Infectious Diseases*, 157 (3), 472–479. <https://doi.org/10.1093/infdis/157.3.472>
- Callicott, K.A., Friðriksdóttir, V., Reiersen, J., Lowman, R., Bisailon, J.-R., Gunnarsson, E., Berndtson, E., Hiatt, K.L., Needleman, D.S. & Stern, N.J. (2006). Lack of evidence for vertical transmission of *Campylobacter* spp. in chickens. *Applied and Environmental Microbiology*, 72 (9), 5794–5798. <https://doi.org/10.1128/AEM.02991-05>
- Dovärn, A. (2009). *Estimering av sjukdomsbördan i Sverige för Campylobacter och Verotoxinbildande E. coli.* (Examensarbete 30 hp). Uppsala Universitet. Civilingenjörprogrammet Bioinformatik. [2020-11-12]
- Doyle, M.P. (1984). Association of *Campylobacter jejuni* with laying hens and eggs. *Applied and Environmental Microbiology*, 47 (3), 533–536. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC239715/> [2020-11-10]
- Efimochkina, N.R., Bykova, I.B., Markova, Y.M., Korotkevich, Y.V., Stetsenko, V.V., Minaeva, L.P. & Sheveleva, S.A. (2017). Formation of biofilms by foodborne pathogens and development of laboratory in vitro model for the study of *Campylobacter* genus bacteria based on these biofilms. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 162 (4), 474–478. <https://doi.org/10.1007/s10517-017-3643-z>
- EFSA and ECDC (2019). The European Union one health 2018 zoonoses report. *EFSA Journal*, 17 (12), e05926. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5926>
- Folkhälsomyndigheten (2017). *Sjukdomsinformation om campylobacterinfektion.* <http://www.folkhalsomyndigheten.se/smittykydd-beredskap/smittsamma-sjukdomar/campylobacterinfektion/> [2020-12-11]
- Folkhälsomyndigheten (2019). *Tabellsamling över anmälningspliktiga smittsamma sjukdomar i Sverige 2019, epidemiologisk årsrapport — Folkhälsomyndigheten.* <http://www.folkhalsomyndigheten.se/publicerat-material/publikationsarkiv/t/tabellsamling-over-anmalningspliktiga-smittsamma-sjukdomar-i-sverige-2019-epidemiologisk-arsrapport/> [2020-11-04]

- Folkhälsomyndigheten (2020). *Campylobacterinfektion – sjukdomsstatistik — Folkhälsomyndigheten*. <http://www.folkhalsomyndigheten.se/folkhalsorapportering-statistik/statistik-a-o/sjukdomsstatistik/campylobacterinfektion/> [2020-11-11]
- Fonseca, B.B., Beletti, M.E., Melo, R.T. de, Mendonça, E.P., Coelho, L.R., Nalevaiko, P.C. & Rossi, D.A. (2014). Campylobacter jejuni in commercial eggs. *Brazilian Journal of Microbiology*, 45 (1), 76–79. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822014000100011>
- Frosth, S., Karlsson-Lindsjö, O., Niazi, A., Fernström, L.-L. & Hansson, I. (2020). Identification of transmission routes of Campylobacter and on-farm measures to reduce Campylobacter in chicken. *Pathogens*, 9 (5). <https://doi.org/10.3390/pathogens9050363>
- Hansson, I. (2007). *Bacteriological and epidemiological studies of campylobacter spp. in Swedish broilers*. Diss. Uppsala: Sverige lantbruksuniversitet. <https://pub.epsilon.slu.se/1461/> [2020-11-02]
- Hansson, I., Engvall, E.O., Ferrari, S., Harbom, B. & Lahti, E. (2020). Detection of Campylobacter species in different types of samples from dairy farms. *Veterinary Record*, 186 (18), 605–605. <https://doi.org/10.1136/vr.105610>
- Hansson, I., Engvall, E.O., Vågsholm, I. & Nyman, A. (2010). Risk factors associated with the presence of Campylobacter-positive broiler flocks in Sweden. *Preventive Veterinary Medicine*, 96 (1), 114–121. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2010.05.007>
- Hansson, I., Gustafsson, P., Lahti, E. & Olsson Engvall, E. (2015). 25 Years of the Swedish Campylobacter monitoring program. In: *Proceedings of the 18th International-Workshop on Campylobacter, Helicobacter and Related Organisms*. Rotorua, Nya Zeeland: CHRO, 59. https://www.academia.edu/18177085/18th_International_workshop_on_Campylobacter_Helicobacter_and_related_organisms_CHRO_2015 [2020-11-06]
- Jordbruksverket (2020a). *Campylobacter*. *Campylobacter - Jordbruksverket*. <http://djur.jordbruksverket.se/amnesomraden/djur/sjukdomarochsmittskydd/smittsamadjursjukdomar/campylobacter.4.67e843d911ff9f551db8000351.html> [2020-11-06]
- Jordbruksverket (2020b). *Slakt av fjäderfä vid slakteri år 1995 - 2019*. http://statistik.sjv.se/PXWeb/pxweb/sv/Jordbruksverkets%20statistikdatabas/Jordbruksverkets%20statistikdatabas__Animalieproduktion__Slakt/JO0604A5.px/table/table-ViewLayout1/?rxid=5adf4929-f548-4f27-9bc9-78e127837625 [2021-01-05]
- Jordbruksverket (2021). *Totalkonsumtion fjäderfäkött 2018*. http://statistik.sjv.se/PXWeb/pxweb/sv/Jordbruksverkets%20statistikdatabas/Jordbruksverkets%20statistikdatabas__Konsumtion%20av%20livsmedel/JO1301K2.px/table/table-ViewLayout1/?rxid=5adf4929-f548-4f27-9bc9-78e127837625 [2021-01-05]
- Neill, S.D., Campbell, J.N. & O'brien, J.J. (1985). Egg penetration by Campylobacter jejuni. *Avian Pathology*, 14 (3), 313–320. <https://doi.org/10.1080/03079458508436233>
- Paula, A., Fonseca, B., Silva, M. & Rossi, D. (2009). Viability of Campylobacter jejuni in commercial eggs. *Bioscience Journal*, 25, 143–148
- Persson, A.L. (2009). *Modern svensk äggproduktion*. Jönköping: Statens jordbruksverk
- Quinn, P.J., Markey, B.K., Leonard, F.C., FitzPatrick, E.S., Fanning, S. & Hartigan, P.J. (2011). *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. Second Edition. Iowa, USA: Wiley-Blackwell.
- Robinson, D.A. (1981). Infective dose of Campylobacter jejuni in milk. *British Medical Journal (Clinical Research Ed.)*, 282 (6276), 1584–1584. <https://doi.org/10.1136/bmj.282.6276.1584>

- Rådets förordning 1234/2007 (2007). *Rådets förordning (EG) nr 1234/2007 av den 22 oktober 2007 om upprättande av en gemensam organisation av jordbruksmarknaderna och om särskilda bestämmelser för vissa jordbruksprodukter (enda förordningen om de gemensamma organisationerna av marknaden)*. OJ L. <http://data.europa.eu/eli/reg/2007/1234/oj/swe> [2021-02-01]
- Sahin, O., Kobalka, P. & Zhang, Q. (2003). Detection and survival of *Campylobacter* in chicken eggs. *Journal of Applied Microbiology*, 95 (5), 1070–1079. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.02083.x>
- SFS 2004:168. *Smittskyddslag*. Stockholm: Socialdepartementet
- Shane, S.M., Gifford, D.H. & Yogasundram, K. (1986). *Campylobacter jejuni* contamination of eggs. *Veterinary Research Communications*, 10 (6), 487–492. <https://doi.org/10.1007/BF02214012>
- Shanker, S., Lee, A. & Sorrell, T.C. (1986). *Campylobacter jejuni* in broilers: the role of vertical transmission. *The Journal of Hygiene*, 96 (2), 153–159. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2129649/> [2020-11-12]
- SJVFS 2012:24. *Statens jordbruksverks föreskrifter om anmälningspliktiga djursjukdomar och smittämnen*. Jönköping: Statens jordbruksverk
- Socialstyrelsen (2013). *Campylobacterinfektion: ett nationellt strategidokument*. Stockholm: Socialstyrelsen.
- Studahl, A. & Andersson, Y. (2000). Risk factors for indigenous *campylobacter* infection: a Swedish case-control study. *Epidemiology and Infection*, 125 (2), 269–275. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2869598/> [2020-12-06]
- Sundström, K. (2015). Samhällskostnader för fem livsmedelsburna sjukdomar i Sverige. *AgriFood Policy Brief*, (2015:5). <https://www.agrifood.se/publication.aspx?fKeyID=1822> [2020-11-04]
- SVA (2019). *Campylobacteriosis. Surveillance of Infectious Diseases in Animals and Humans in Sweden 2019*. Uppsala: SVA, 26–30
- Svensk Fågel (2020a). *Campylobacter*. <https://svenskfagel.se/program/campylobacter/> [2020-11-06]
- Svensk Fågel (u.å.). *Produktionskedjan*. <https://svenskfagel.se/produktionskedjan/> [2021-01-05]
- Svensk Fågel (2020b). Årsrapport *Campylobacter*programmet 2019. <https://svenskfagel.se/wp-content/uploads/2020/05/arsrapport-camp-2019.pdf> [2020-11-12]
- Svenska Ägg (2020). *Personligt meddelande*.
- Tack, D.M. (2020). Preliminary incidence and trends of infections with pathogens transmitted commonly through food - Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 U.S. sites, 2016–2019. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, 69. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6917a1>
- Thabane, M. & Marshall, J.K. (2009). Post-infectious irritable bowel syndrome. *World Journal of Gastroenterology : WJG*, 15 (29), 3591–3596. <https://doi.org/10.3748/wjg.15.3591>
- Timoney, J.F., Shivaprasad, H.L., Baker, R.C. & Rowe, B. (1989). Egg transmission after infection of hens with *Salmonella enteritidis* phage type 4. *The Veterinary Record*, 125 (24), 600–601
- VetBact (2020). *Campylobacter jejuni*. <https://www.vetbact.org/index.php?artid=89&vbsearchstring=Campylobacter%20jejuni> [2020-11-03]

- Wretborn, C. (2010). *Folkhälsa - Djurhälsa. Ny ansvarsfördelning mellan stat och näring*. Statens Offentliga Utredningar (SOU 2010:106). Stockholm,
- Zambrano, L.D., Levy, K., Menezes, N.P. & Freeman, M.C. (2014). Human diarrhoea infections associated with domestic animal husbandry: a systematic review and meta-analysis. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 108 (6), 313–325. <https://doi.org/10.1093/trstmh/tru056>
- Öberg, Å.L. (2020). *Marknadsrapport ägg - utvecklingen till och med 2019*. Statens jordbruksverk. <https://jordbruksverket.se/download/18.430a570b1743edf421c5dcfb/1598881061526/Marknadsrapport-agg-2020.pdf> [2020-12-11]

Tack

Tack till handledare Ingrid Hansson för ditt stora stöd och entusiasm i labbet, via mail och med det skriftliga arbetet. Tack till biträdande handledare Désirée Jansson för din expertkunskap och för hjälpen med det skriftliga arbetet.

Tack till biträdande handledare Lise-Lotte Fernström och BMA Moa Skarin för att allt labbmaterial alltid fanns inom räckhåll och för svaren på alla mina frågor.

Tack till avelsföretaget Blenta AB för alla ägg som skänktes till detta försök.

Tack till Stiftelsen Lantbruksforskning (O-18-20-158) för finansiering av projektet.

Populärvetenskaplig sammanfattning

Campylobacter spp. är ett släkte av bakterier som kan orsaka sjukdom i magtarmkanalen hos människa. Sjukdomen kallas för campylobacterios och är den vanligaste rapporterade orsaken till magtarminfektion i bland annat Sverige, övriga EU och USA. *Campylobacter jejuni* är den art i släktet *Campylobacter* som oftast orsakar sjukdom. Sjukdomen orsakar stora ekonomiska kostnader för samhället varje år. Det är också en stor börda för människor som blir smittade då de vanligaste symtomen är diarré, magsmärtor, kräkningar och feber samt att det finns risk för en rad följsjukdomar. Det krävs bara ett litet antal bakterier för att man ska bli sjuk.

De vanligaste sätten att bli smittad är genom att äta kyckling/kycklingprodukter, mjölkprodukter eller dricka vatten innehållande *Campylobacter*-bakterier. De flesta djur kan ha *Campylobacter* i tarmarna utan att bli sjuka. Slaktkycklingar kan ha höga halter av *Campylobacter* i tarmarna och bakterierna kan överföras till slaktkropparna vid slakt, och som sedan kan smitta konsumenten. Det är dock inte känt om människor kan smittas av *Campylobacter* via äggskal, eller om *Campylobacter* kan överföras från höna till kyckling via äggskal. Målet i denna studie var att undersöka om *Campylobacter* kan överleva på utsidan av ägg och i så fall hur länge. Resultaten kan bidra till att besvara frågeställningarna om ägg kan orsaka campylobacterios hos människa och om *Campylobacter* kan överföras från föräldradjur till kycklingar vid förekomst av *Campylobacter* på utsidan av äggskalet.

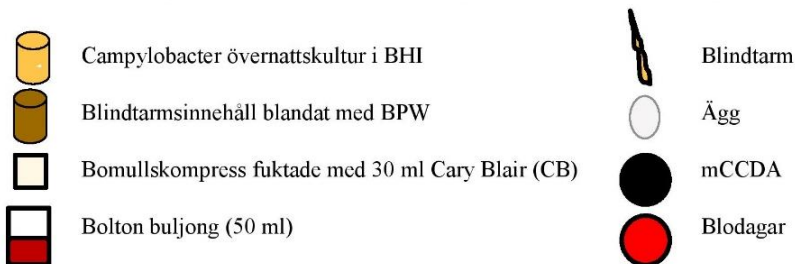
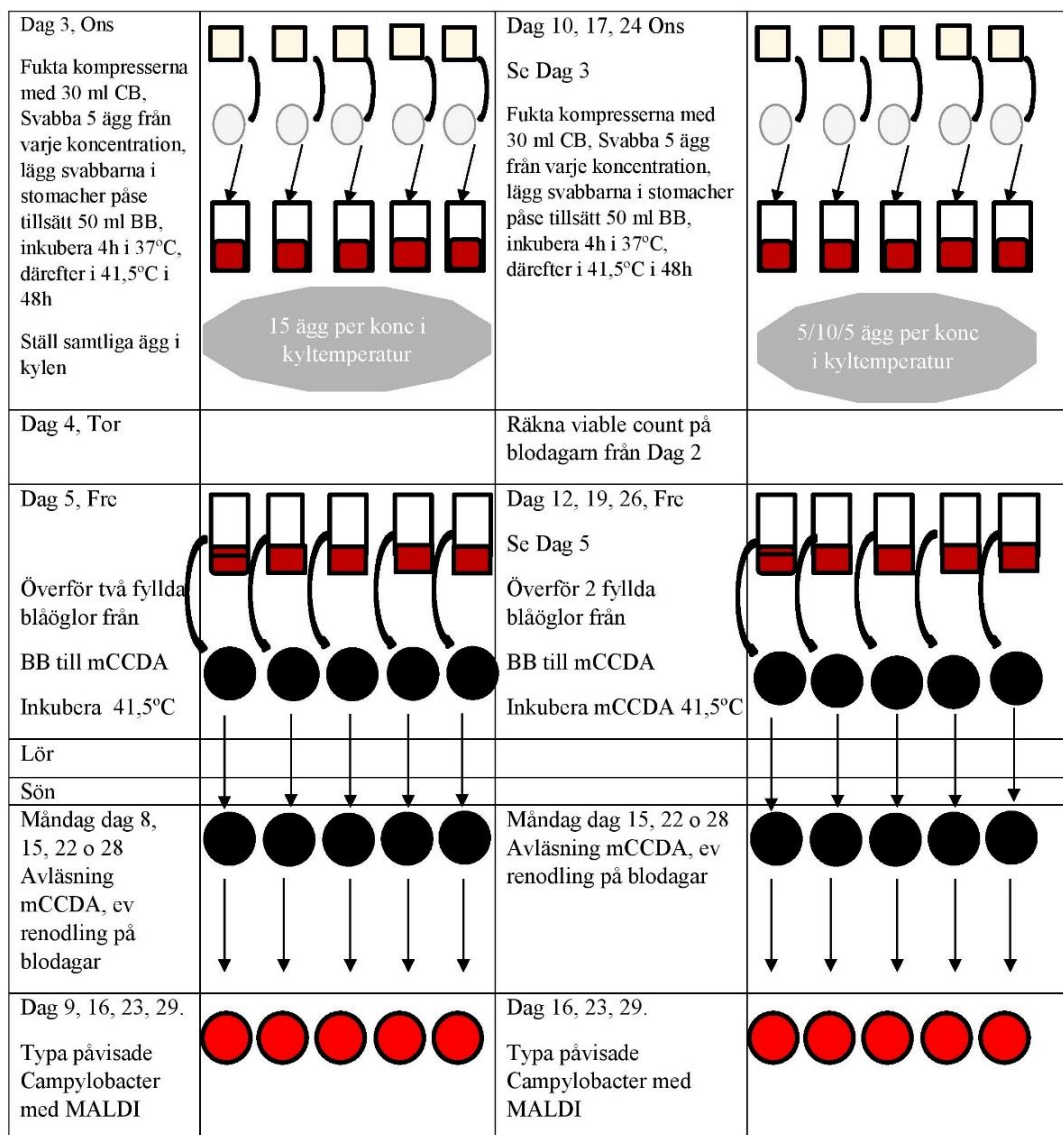
Överlevnad av *Campylobacter* på äggskal undersöktes genom att ägg doppades i buljonger (närringsrika lösningar som främjar bakterietillväxt) med olika koncentrationer av *Campylobacter* samt med eller utan tillsats av blindtarmsinnehåll från kyckling. Äggen doppades i de olika buljongerna, förvarades ett dygn i rumstemperatur och sedan i kyl och analyserades efter olika lång tid avseende växt av *Campylobacter*. Detta gjordes genom att prover togs från äggen och odlades på speciella agarplattor som främjar tillväxt av *Campylobacter* men hämmar tillväxt av andra bakterier som hade kunnat dölja att *Campylobacter* fanns på äggen. Bakteriekolonierna på agarplattorna inspekterades sedan med blotta ögat för att se om *Campylobacter* växte på plattan och därmed hade överlevt på ägget. Tre olika varianter av samma underart, av *Campylobacter jejuni* (ST-257, ST-148 och ST-918) med olika ursprung användes i denna studie. Totalt sett kunde *Campylobacter* påvisas på 16

av 90 ägg ett dygn efter att de doppats i en *Campylobacter*-buljong. På ett ägg kunde *Campylobacter* påvisas efter 10 dygn.



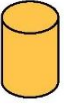
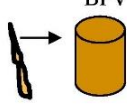
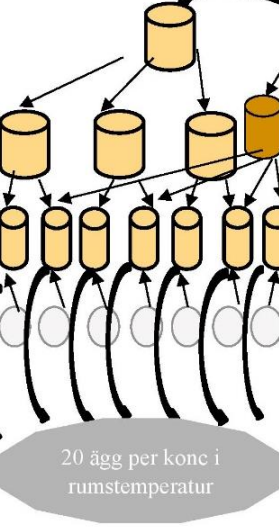
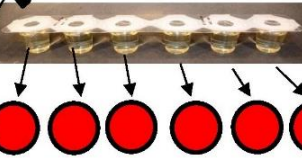
Baserat på resultaten i denna studie går det inte att utesluta att det finns en risk att bli smittad av *Campylobacter* via ägg. Risken bedömer vi vara låg. Risken är större för personal på packerier och på gårdar som hanterar ägg kort efter att de värpts. Det finns också en risk att en miljösmitta på exempelvis ett kläckeri skulle kunna härstamma från ett ägg kontaminerat med *Campylobacter*.

Bilaga 1

Flödesschema som användes under planeringen av arbetet i labbet. Förändringar i planen gjordes löpande.



All odling av *Campylobacter* kommer att göras i microaerob miljö med hjälp av Campygen i anaerobklockor enligt ISO10272 del 1A. I försöket kommer otvättade ägg från närbelägen gård att användas. Innan studien påbörjas, kommer sockprover att tas från värphönsens ströbädd för att försäkra sig om att värphönsen inte är bärare av *Campylobacter*. Studien kommer att genomföras tre gånger med olika sekvenstyper av *Campylobacter* (ST-148, ST-257 och ST-918). Laboratoriearbetet beräknas pågå under september och oktober

<p>Dag -5 ons Plocka upp <i>C. jejuni</i> från frysen</p>	 <p>Odla 37°C i 2d</p>		
<p>Dag -3 fre gör en renodling av <i>Campylobacter</i> från frysen</p>	 <p>Odla 37°C i 2d</p>		
<p>Dag 0, Sön Gör en övernattns kultur av <i>C. jejuni</i> Tina en blindtarm blanda innehållet med 25 ml BPV</p>	 <p>Odla i 37°C i 2 dygn</p>	 <p>BPV</p>	
<p>Dag 2, Tis Gör en Viable count på Camp buljongen. Späd buljongen till 3 olika konc, gör duplikat. Blanda blindtarmsinneåll med BPV, tillsätt blindtarmsbulj. i ena av settet med 3 olika konc. Camp. BPV utan Camp används som kontroll Doppa 20 ägg i varje konc av Camp buljong samt Camp buljong med och utan blindtarms lösning, låt stå i rumstemp</p>	 <p>20 ägg per konc i rumstemperatur</p>	 <p>Odling</p>	<p>Odla microaerobt i 37°C i 2d, räkna antalet bakterier på respektive platta</p>