

Pen-side test til afklaring af årsager til fravænningsdiarré

Flemming Thorup, Mette Gade og Claus Vestergaard

SEGES Innovation P/S, Den rullende Afprøvning

STØTTET AF

Svineafgiftsfonden

Hovedkonklusion

RainbowPiglet fra Biox Diagnostics i Belgien er designet til hurtigt at afklare, hvilke smitstoffer, der er årsag til diarré hos én gris. Der indgik prøver fra 90 stier fordelt på de syv besætninger i afprøvningen. Der blev opsamlet fæces fra fem grise med diarré i hver sti. Testen var modificeret til at undersøge årsagen til diarré i en samleprøve fra fem grise. Det vurderes, at der opnås samme sikkerhed på testen ved at benytte testen til fæces fra fem grise, som ved test af fæces fra en enkelt gris. RainbowPiglet påviste E. coli F4 i 74 % af de prøver, som Veterinært Laboratorium, Kjellerup, fandt massivt inficerede med E. coli F4. For E. coli F18 var det 89 %. Med en sikkerhed på 74 % for at påvise F4 kan RainbowPiglet ikke anbefales til at afklare årsagen til diarré i en specifik sti.

Sammendrag

RainbowPiglet fra Biox Diagnostics i Belgien er en hurtigtest til brug på staldgangen, som er beregnet til at påvise smitstoffer i diarré, som er opsamlet fra en enkelt gris. I denne afprøvning er det undersøgt, om RainbowPiglet kan anvendes til test af en samleprøve med fæces fra fem grise med diarré. Diarréen fra de fem grise i stien blev blandet til én prøve, som blev undersøgt i RainbowPiglet i besætningen. Herefter blev resten af prøven sendt til undersøgelse ved Veterinært Laboratorium, Kjellerup. Der indgik prøver fra 90 stier fordelt på de syv besætninger i afprøvningen. I hver sti blev der opsamlet diarré fra fem grise.

På Veterinært Laboratorium, Kjellerup, blev der påvist E. coli F4 i høj koncentration i 34 af de 90 prøver i afprøvningen. Af disse 34 positive prøver var 25 af prøverne positive ved test i RainbowPiglet. Det svarer til, at der blev opnået en sikkerhed (sensitivitet) på 0,74 for at påvise, at E. coli F4 var årsag til diarré hos grisene. Dette resultat ligger under den sikkerhed på 0,80, som var acceptabel for testen. Testens evne til at undgå falsk positiv påvisning af E. coli F4, når denne bakterie ikke var til stede eller E. coli F4 kun var til stede i lav koncentration var 0,82 (specificitet).

Veterinært Laboratorium, Kjellerup, påviste massiv forekomst af E. coli F18 i ni af de 90 prøver. Ved testen med RainbowPiglet var otte af de ni prøver positive. Det giver en høj sikkerhed for, at RainbowPiglet påviser E. coli F18 i en positiv prøve på 0,89 (sensitivitet), men da bare ni af de 90 prøver var positive for E. coli F18, så er sensitiviteten meget usikkert bestemt, da sensitiviteten kan variere mellem 0,51 og 1,00 (95 % konfidensinterval). Der var en sikkerhed for ikke at tage fejl af en negativ prøve (specificitet) på 0,72.

De resultater, der er opnået i denne afprøvning af RainbowPiglet, svarer til de resultater, som tidligere er opnået i to danske undersøgelser, hvor RainbowPiglet blev testet på fæces fra enkelte grise med diarré (Jakobsen et al. 2022; Nielsen et al. 2022).

Målet med afprøvningen var at udvikle en model til at undersøge samleprøver i RainbowPiglet. Sensitiviteten af RainbowPiglet var 0,74 for E. coli F4 og 0,89 for E. coli F18. Der var forventet en sensitivitet på mindst 0,80. For at kompensere for den lavere sensitivitet for at påvise E. coli F4 med RainbowPiglet, anbefales det derfor ikke til at afklare årsagen til diarré en specifik sti. Testen kan muligvis anvendes, hvis der ønskes et hurtigt overblik over, om E. coli F4 eller E. coli F18 er årsag til diarré i den staldsektion, som prøverne kommer fra. Det vil forudsætte, at der undersøges diarré fra flere stier og at materiale fra hver sti undersøges med én test pr. sti.

Baggrund

Fravænningsdiarré rammer en stor del af de fravænnede grise, og ses oftest indenfor de første ti dage efter fravænnning (Eriksen et al. 2023). Fravænningsdiarré påvirker grisenes velfærd og produktivitet negativt og er ofte årsag til, at der ordineres antibiotika til behandling til smågrisene.

Indtil juni 2022 var det tilladt at tildele medicinsk zink i smågrise foderet med en dosis på op til 3.000 ppm i de første 14 dage efter fravænnning. Brugen af medicinsk zink medførte, at grisene sjældent udviklede behandlingskrævende diarré de første 14 dage efter fravænnning. Mange besætninger så dog en stigning i forekomsten behandlingskrævende diarré, når de skiftede foder efter de første 14 dage (Pedersen, 2018). Lovgivningen har i dag fastsat et maksimalt totalindhold på 150 ppm zink i foderblandingen. Som følge af denne reduktion er der i dag større risiko for, at de fravænnede grise udvikler diarré, hvilket kan forklare, at der er set en generel stigning i antibiotikaforbruget til smågrise (se figur 4.3a i Duarte et al. 2024).

Fravænningsdiarré kan skyldes, at tarmen hos de fravænnede grise har svært ved at håndtere skiftet fra soens letfordøjelige mælk til at fordøje fast føde. Diarré kan også skyldes eller forstærkes af et eller flere smitstoffer, som kan gøre de fravænnede grise syge. Hyppigst er der så tale om colibakterier med antigenerne F4 eller F18. Bakterien E. coli F4 har en struktur på overfladen, som binder sig til F4 receptoren, der sidder på grisens tarmslimhinde. Derved kan bakterien blive siddende på tarmslimhindens overflade, hvor den udskiller giftstoffer (toksiner), som skader tarmcellerne og fremkalder diarré. Bakterien E. coli F18 binder sig til receptoren F18 på tarmslimhinden. Grise fødes med receptoren F4 på tarmslimhinden, mens F18 receptoren først udvikles i tarmen fra grisene bliver over ca. 21 dage gamle. Derfor er det først efter tre-ugers alderen, at der begynder at ses diarré pga. E. coli F18. Rotavirus kan fremkalde diarré hos yngre grise, men det er ikke endelig afklaret, om høj forekomst af Rotavirus har betydning for fravænningsdiarré. Bakterierne Lawsonia Intracellularis og Brachyspira pilosicoli kan også fremkalde diarré hos smågrise, men disse to smitstoffer ses som oftest først nogle uger efter fravænnning (Pedersen, 2018). Af disse infektioner er det sandsynligvis kun E. coli F4 og E. coli F18, som er relevante ved fravænningsdiarré.

Det vil være praktisk, hvis man let og hurtigt kan afklare, om det er sygdomsfremkaldende E. colibakterie, der er årsag til et udbrud af diarré. RainbowPiglet kan påvise en række smitstoffer, som

kan fremkalde fravænningsdiarré. I to tidligere undersøgelser er RainbowPiglet testet for sikkerheden for at kunne påvise E. Coli F4 og E. Coli F18 i diarré fra en enkelt gris. I disse to undersøgelser var RainbowPiglet mindre sikker til at påvise tilstedeværende smitstoffer end de analysemetoder, der anvendes ved Veterinært Laboratorium i Kjellerup (Jakobsen et al. 2022; Nielsen et al. 2022).

Formålet med denne afprøvning var at undersøge, hvor sikkert pen-sidetesten RainbowPiglet kan påvise forekomst af bakterierne E. coli F4 og E. coli F18 i en samleprøve fra fem grise med diarré. Den samme prøve blev herefter undersøgt på Veterinært Laboratorium, Kjellerup, og resultatet herfra blev brugt som et mål for det korrekte resultat (Golden standard).

Materialer og metoder

Besætninger på Sjælland og i Vestjylland blev kontaktet telefonisk. Besætningerne indgik i afprøvningen, hvis der var behov for at behandle mange grise for diarré indenfor den første uge efter fravæning, og hvis besætningsejer ville deltage i undersøgelsen. Besætningerne blev besøgt to til tre gange på den ugedag, hvor der hyppigt blev set diarré. Ved besøget blev der udvalgt grise fra optil otte stier, hvor der var mindst fem grise med diarré (se antal prøver pr. besætning i tabel 1). Grisene indgik i forsøget, hvis de havde diarré i form af lind eller vandig fæces (Eriksen et al, 2023). Grisene var ikke behandlet med antibiotika efter fravæning. Fra hver sti blev fem grise klemmt, så en passende mængde diarré blev afsat på en paptallerken. Det blev tilstræbt, at hver gris afsatte lige meget diarré på tallerkenen. Diarréen blev blandet ved at rotere tallerkenen, og herefter hældt over i et plastbæger (se foto 1), som var mærket med stiens identifikation.

Når der var opsamlet prøver fra fem grise i det ønskede antal stier, blev én samleprøve pr. sti analyseret i besætningen ved brug af RainbowPiglet fra Biox Diagnostics i Belgien. Dette testkit er udviklet til at teste fæces for tilstedeværelse af Rotavirus, E. coli F4, F5 og F18, Clostridium perfringens og Clostridium difficile. Af disse infektioner er det sandsynligvis kun E. coli F4 og E. coli F18, som er relevant ved fravænningsdiarré. Rotavirus kan fremkalde diarré hos yngre grise, men det er ikke endelig afklaret, om høj forekomst af Rotavirus har betydning for fravænningsdiarré.

Tabel 1. Kort beskrivelse af besætningerne i afprøvningen.

Besætning	Antal stier i undersøgelsen	Antal besøg	
1	15	3	De første 10 prøver blev undersøgt med tilsætning af 1 skefuld diarré pr. test.
2	15	2	Hhv. 4 og 11 prøver.
3	14	2	Der var for få stier, hvor grisene havde diarré ved de to besøg.
4	9	2	Der var for få stier, hvor grisene havde diarré ved de to besøg.
5	15	2	Ingen afvigelser fra forsøgsplanen.
6	7	1	Besætningen blev besøgt 2 gange. Papiret med resultater fra det første besøg blev glemt.
7	15	2	Ingen afvigelser fra forsøgsplanen.

Brugsanvisningen for RainbowPiglet angiver, at der skal anvendes én strøget måleske med diarré ved testen (se figur A3 i appendiks). Ved opstart af afprøvningen oplyste producenten af RainbowPiglet, at der bør anvendes to eller tre skefulde diarré for at opnå den højeste mulige følsomhed af testen. Det blev herefter valgt at anvende tre skefulde i projektet. Der var syv prøver fra én besætning, som blev undersøgt med både én og tre skefulde fæces. Her var der tegn på, at der blev opnået større følsomhed

af testen med tre end med én skefuld diarré. Dette er vist i figur A1 og A2 i Appendiks. Der bør gennemføres flere sammenligninger med test af én og tre skefulde diarré for at afklare, om denne større følsomhed kan opnås uden, at der samtidig findes flere falsk positive prøver.

Resultatet af testen med RainbowPiglet blev registreret som tydelig reaktion med værdien "1", hvis der var en tydelig rødfarvning af testområdet (score A i foto 5). Hvis reaktionen var svagere, så anvendtes værdien 2 (score B i foto 5). En svag farvning eller en reaktion, der kunne mangle farve, men hvor der var en blank reaktion af testbåndet, fik værdien 3 (score C og score D i foto 5). Både 1, 2 og 3 blev opfattet som et positivt testsvar. Manglende reaktion som vist i foto 4 fik koden 4 (negativt testsvar). Værdien 5 angav, at kontrolbåndet ikke ændrede farve, hvilket betyder, at testresultatet er usikkert. Værdien 6 angav, at væsken ikke var trukket op til kontrolbåndet. I de fleste tilfælde, hvor værdien for E. coli F4 eller E. coli F18 blev 5 eller 6, blev testen gentaget for den aktuelle prøve.

Veterinært Laboratorium, Kjellerup, anvender PCR ved analyse af årsagen til diarré. PCR "måler" antallet af genkopier fra det smitstof, der undersøges for. Resultatet angives som CT-værdi, som bliver lavere, jo flere genkopier (smitstof), der er i prøven. Ud fra en kurve omregnes CT-værdien til et antal bakterier i prøven. Veterinært Laboratorium, Kjellerup, anvender en skala med "ikke påvist", "lav", "moderat" og "massiv infektion". En CT-værdi under 35 resulterer i værdien "massiv infektion" og svarer til, at der er over $1,53 \times 10^7$ af den målte bakterie pr. gram fæces. Massiv infektion er anvendt som "positiv prøve" i denne undersøgelse. Testsvarene "moderat", "lav" og "ikke påvist" opfattes som negativt testsvar i denne undersøgelse.



Foto 1. Plastbægre til diarré.



Foto 2. Hvis der var tegn på diarré i stien, så blev stien inkluderet.



Foto 3. Testen er lige startet. Både kontrol- og teststriberne er blå, da væsken ikke har nået striberne endnu. Det lille felt viser, hvor højt væskefasen er nået op på strimlen.



Foto 4. Væsken har fået de øverste blå kontrolstriber til at blive røde. Den blå stribe nedenfor kontrolstriberne er forsvundet, så testresultatet er "negativt".

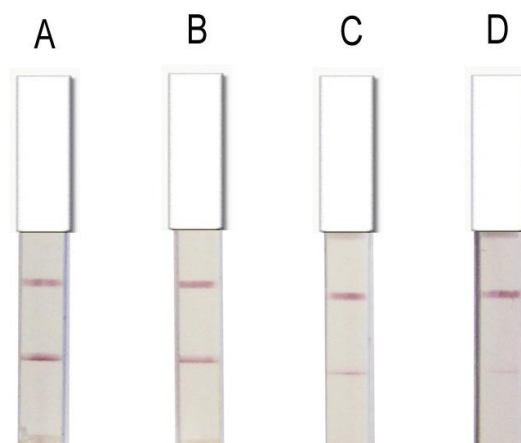


Foto 5. Skematisk beskrivelse af vurderingen af testresultatet. Den øverste stribe er kontrol og den nederste er resultatet af testen. I afprøvningen er både A, B, C og den meget svage reaktion D regnet som "positiv reaktion". "Negativ reaktion" blev anvendt, hvis der ikke var en synlig reaktion som indikerede, hvor teststriben var placeret.

Efter at diarréprøverne var undersøgt i RainbowPiglet, blev resten af prøverne pakket ned med et kølelegeme, og sendt til Veterinært Laboratorium, Kjellerup. Her blev der udført "lille diarrépakke" på prøven. I denne pakke analyseres prøverne med PCR-test for E. coli F4, E. coli F18, Lawsonia intracellularis og Brachyspira pilosicoli.

Hypotese og statistik

Afprøvningen var designet til at kunne påvise en sensitivitet af RainbowPiglet på 0,80 i forhold til laboratorietesten fra Veterinært Laboratorium, Kjellerup, som opfattes som golden standard. Dette blev undersøgt både for E. coli F4 og for E. coli F18. RainbowPiglet opfattes som positiv, hvis den visuelle vurdering af resultatet har fået værdien 1, 2 eller 3. Laboratorietesten opfattes som positiv, hvis der observeres over $1,53 \times 10^7$ genkopier (bakterier) pr. gram fæces.

Forudsætningerne for dimensioneringen af afprøvningen var 92 % forventet specificitet på RainbowPiglet, og en 64 % forekomst af både E. coli F4 og E. coli F18. For at påvise en specificitet >80% med en styrke på 80 % i det scenarie, skal der bruges 150 prøver. Der blev imidlertid kun indsamlet 85 og 87 tests for hhv. E. coli F4 og E. coli F18, og forekomsten af E. coli viste sig, ifølge golden standard, langt lavere end forventet: 40 % og 9 % for hhv. E. coli F4 og E. coli F18. Afprøvningens styrke endte dog med at blive 78 % og 91 % for hhv. E. coli F4 og E. coli F18. Dette skyldes, at specificiteten kun beregnes ud fra de negative prøver (ifølge golden standard), og den lave forekomst (dvs. stor andel negative prøver) var således i stand til at kompensere for det lave antal indsamlede prøver.

Resultater og diskussion

Undersøgelsen omfatter diarréprøver fra 90 stier. Hver prøve indeholdt diarré opsamlet fra fem grise fra samme sti. Prøverne kom fra syv forskellige besætninger. Når prøverne blev analyseret i besætningen med RainbowPiglet, så var der problemer med, at væsken ikke trak ordentligt op i en eller flere af teststriberne. Dette skete for E. coli F4 eller for E. coli F18 i ni af de 90 prøver, som derfor måtte gentages for at opnå et resultat for både E. coli F4 og for E. coli F18. Hvis det var en af de øvrige teststriber, som gav problemer, så blev prøven ikke gentaget. Problemet med, at væsken ikke ville trække op, kan være fremkaldt af, at der blev anvendt tre måleskeer fæces til testen, hvor der anbefales én skefuld i brugsanvisningen (se måleskeen i appendiks, Figur A3, foto 1). Figur A1 og A2 i appendiks antyder, at de tre skefulde giver en øget følsomhed af testen. Der er brug for at sammenligne et større antal prøver med hhv. en og tre skefulde fæces, for at undersøge, om den større følsomhed ved at anvende tre skefulde samtidig betyder, at der er flere af prøverne, som bliver falsk positive, hvilket vil medføre en lavere specificitet.

Tabel 2 viser resultaterne ved undersøgelse for E. Coli F4 og E. Coli F18 på Veterinært Laboratorium, Kjellerup, som er golden standard ved sammenligning med RainbowPiglet. Resultaterne er inddelt i henholdsvis "massiv", "moderat", "lav" eller "ikke påvist". Kun "massiv" forekomst blev opfattet om et positivt fund i denne undersøgelse. "Massiv" forekomst af E. Coli F4 blev fundet i 35 ud af 90 prøver (39 %), mens det for E. Coli F18 kun drejede sig om ni ud af 90 prøver (10 %). For alle 90 prøver var forekomsten af Lawsonia intercellularis "Ikke påvist", mens Brachyspira pilosicoli var "moderat" i tre prøver, "lav" i to prøver og "Ikke påvist" i de øvrige 85 prøver.

Tabel 2. Resultat af laboratorieundersøgelserne ved Veterinært Laboratorium, Kjellerup.

E. Coli F-type	Massiv (Positiv)	Moderat (Negativ)	Lav (Negativ)	Ikke påvist (Negativ)	I alt
F4	35 (39 %)	24	3	28	90
F18	9 (10 %)	42	14	25	90

I tabel 3 og 4 sammenlignes resultaterne fra RainbowPiglet med de samme prøver testet ved Veterinært Laboratorium, Kjellerup. Tabel 3 viser resultaterne for måling af E. coli F4 og tabel 4 viser resultaterne for E. coli F18. Resultater fra Veterinært Laboratorium, Kjellerup, opfattes som det korrekte resultat = golden standard. "Massiv" opfattes som positivt resultat, mens "moderat", "lav" og "ikke påvist" regnes som negativ reaktion. For RainbowPiglet er summen af "høj", "mellem" og "lav" regnet som positiv, mens "negativ" regnes som negativ. Målinger, hvor "kontrolstreg mangler" og "væsken nåede ikke kontrolstregen" indgår ikke i beregningen af sensitivitet og specificitet.

Tabel 3. Resultat af test for E. coli F4. Antal prøver fordelt på grupperne ved undersøgelse på Veterinært Laboratorium, Kjellerup (golden standard) og i RainbowPiglet.

Veterinært Laboratorium	Massiv	Moderat	Lav	Ikke påvist	I alt
RainbowPiglet					
Høj	10	1	0	0	11
Mellem	7	3	0	1	11
Lav	8	4	0	0	12
Negativ	9	15	3	24	51
Kontrolstreg mangler	1*	1*	0	0	2
Væsken nåede ikke kontrolstregen	0	0	0	3*	3
I alt	34	23	3	25	85

* Værdierne med grå skygge er ikke med i "i alt", og indgår dermed ikke i beregningen af sensitivitet og specificitet af RainbowPiglet.

Forklaring af farve på felter: Grøn = sandt positiv: 25 prøver / Blå = sandt negativ: 42 prøver / Rød = falsk negativ: 9 prøver / Orange = Falsk positiv: 9 prøver / Grå = prøven kunne ikke anvendes: 5 prøver

Tabel 4. Resultat af test for E. coli F18. Antal prøver fordelt på grupperne ved undersøgelse på Veterinært Laboratorium, Kjellerup (golden standard) og i RainbowPiglet.

Veterinært Laboratorium	Massiv	Moderat	Lav	Ikke påvist	I alt
RainbowPiglet					
Høj	5	5	0	0	10
Mellem	0	5	0	0	5
Lav	3	10	1	1	15
Negativ	1	19	13	24	57
Kontrolstreg mangler	0	1*	0	0	1*
Væsken nåede ikke kontrolstregen	0	2*	0	0	2*
I alt	9	39*	14	25	87*

* Værdierne med grå skygge er ikke med i "i alt", og indgår dermed ikke i beregningen af sensitivitet og specificitet af RainbowPiglet.

Forklaring af farve på felter: Grøn = sandt positiv: 8 prøver / Blå = sandt negativ: 56 prøver / Rød = falsk negativ: 1 prøve / Orange = falsk positiv: 22 prøver / Grå = prøven kunne ikke anvendes: 3 prøver.

Beregning af sensitivitet: $\text{Antal sandt positive} / (\text{Antal sandt positive} + \text{antal falsk negative})$
 Forklaring på sensitivitet: Antal korrekt positive i forhold til det totale antal smittede = evnen til at finde alle de smittede
 Beregning af specificitet: $\text{Antal sandt negative} / (\text{Antal sandt negative} + \text{antal falsk positive})$
 Forklaring på Specificitet: Antal korrekt negative i forhold til det totale antal negative = evnen til at finde alle de sunde

Resultatet af afprøvningen for hhv. E. coli F4 og E. coli F18 er omregnet til sensitivitet og specificitet i tabel 5 og 6, hvor resultaterne sammenlignes med resultaterne af to tidligere undersøgelser, hvor RainbowPiglet var blevet testet på enkeltgrise. I denne afprøvning var sensitiviteten (følsomheden) af RainbowPiglet ved påvisning af E. Coli F4 på 0,74 og specificiteten (sikkerheden) på 0,82. For E. Coli F18 er sensitiviteten på 0,89 og specificiteten på 0,72. Beregningerne for E. Coli F18 er kun baseret på ni positive observationer, hvilket gør sensitiviteten svær at bestemme præcist. Det ses, at konfidensintervallet er meget bredt (se tabel 6). Konfidensintervallet er et mål for sikkerheden af resultaterne.

Tabel 5. Resultater for E. coli F4 i denne afprøvning sammenlignet med tidligere danske undersøgelser.

Kilde	E. coli F4			
	Antal positive prøver ¹	Antal negative prøver ¹	Sensitivitet	Specificitet
Jakobsen et al. (2022)	40	70	0,28	0,99
Nielsen et al. (2022)	39	15	0,84	0,38
Denne undersøgelse	34	51	0,74 (0,56-0,87)²	0,82 (0,69-0,91)²

¹ "Antal positive og antal negative prøver" er det antal positive og negative prøver, som blev resultatet på Veterinært Laboratorium, Kjellerup. Det er dette antal, der som "Golden standard" blev sammenlignet med resultatet af RainbowPiglet.

²Tallene i parenteser angiver 95 % konfidensintervallet,

Tabel 6. Resultater for E. coli F18 i denne afprøvning sammenlignet med tidligere danske undersøgelser.

Kilde	E. coli F18			
	Antal positive prøver ¹	Antal negative prøver ¹	Sensitivitet	Specificitet
Jakobsen et al. (2022)	73	39	0,4	0,92
Nielsen et al. (2022)	9	45	0,88	0,96
Denne undersøgelse	9	78	0,89³ (0,51-1,00)²	0,72³ (0,60-0,81)²

¹ "Antal positive og antal negative prøver" er det antal positive og negative prøver, som blev resultatet på Veterinært Laboratorium, Kjellerup. Det er dette antal, der som "Golden standard" blev sammenlignet med resultatet af RainbowPiglet.

²Tallene i parenteser angiver 95 % konfidensintervallet.

³ Der indgår kun ni positive prøver ved beregning af sensitivitet og specificitet for E. coli F18.

Tabel 5 viser, at i denne afprøvning havde RainbowPiglet en sensitivitet på 0,74 for at påvise E. coli F4. Selv om dette resultat ligger nær de ønskede 0,8, så betyder det, at RainbowPiglet overser ca. ¼ af de tilfælde, hvor Veterinært Laboratorium, Kjellerup, fandt massiv forekomst af E. coli F4. Sensitiviteten er betydeligt højere end fundet af Jakobsen et al. (2022), men noget lavere end fundet af Nielsen et al. (2022). Specificiteten er 0,82, hvilket er højere end specificiteten fundet af Nielsen et al. (2022), men lavere end specificiteten fundet af Jakobsen et al. (2022).

Tabel 6 viser, at der kun var ni af de 57 prøver, hvor E. coli F18 forekom i "massiv" koncentration ved undersøgelse ved Veterinært Laboratorium, Kjellerup, i denne undersøgelse. Sensitiviteten var høj (0,89), men da dette er baseret på få positive prøver, så er der tale om et usikkert resultat, hvilket ses

af det brede konfidensinterval (0,51-1,00). Specificiteten var på 0,72). Jakobsen et al. (2022) fandt en meget lav sensitivitet på 0,4 for at påvise E. coli F18 i sin undersøgelse. Nielsen et al. (2022) fandt samme sensitivitet (0,89) som fundet i denne afprøvning (0,88). Både Jakobsen et al. (2022) og Nielsen et al. (2022) fandt en højere specificitet (0,92 og 0,96) end der blev fundet i denne afprøvning (0,72).

I den aktuelle afprøvning er det kun prøver fra Veterinært Laboratorium, Kjellerup med "massiv" forekomst af E. coli (behandlingskrævende forekomst), der opfattes som positive, når resultatet sammenlignes med udslag i RainbowPiglet. Det svarer til, at der er over $1,53 \times 10^7$ bakterier pr. gram fæces. Hverken Jakobsen et al. (2022) eller Nielsen et al. (2022) angiver koncentrationen af bakterier i de positive prøver, som RainbowPiglet blev sammenlignet med. Jakobsen et al. (2022) medregnede såvel tydelige som svage reaktioner ved test med RainbowPiglet som et positivt resultat, hvilket også er anvendt i denne afprøvning.

Da RainbowPiglet især for E. coli F4 er mindre sensitiv end PCR ved Veterinært Laboratorium, Kjellerup, så kan det ikke anbefales at anvende testen til at undersøge fæces fra en specifik gris eller en samleprøve af fæces fra flere grise i en sti, for at afklare, om E. coli F4 er årsag til diarréen. Testen kan være relevant, hvis der ønskes et hurtigt svar på, hvilke bakterier, der er årsag til diarré i en staldsektion. For at være sikker på, at testen påviser de bakterier, som er til stede, så skal der opsamles diarré fra grise i flere stier i sektionen, og prøverne fra de enkelte stier skal undersøges i hver sin test.

Konklusion

Pen-sidetesten RainbowPiglet er afprøvet i forhold til at diagnosticere E. coli F4 og E. coli F18 som årsag til fravænningsdiarré. Afprøvningen viste, at RainbowPiglet er mindre sensitiv (evne til at finde de inficerede grise) og har lavere specificitet (evne til at påvise ikke-inficerede grise) ved diagnostik af årsagen til diarré i en specifik sti. Trods modificeringerne af testen til at undersøge fæces fra fem grise pr. prøve, og modificeringen til at tredoble mængden af fæces ved testen, så minder afprøvningens resultater overordnet set om resultaterne fra to tidligere undersøgelser, hvor man anvendte hver test til at undersøge fæces fra en enkelt gris med diarré i RainbowPiglet.

Referencer

Duarte, A. S. R.; Pessoa, J; Attauabi, M.; Lindegaard, M.; Sönksen, U.; 2024. DANMAP 2023. ISSN 1600-2032. [danmap_2023_low_version-2.pdf](#)

Eriksen EØ, Nielsen JP, Agerlin MV, Christensen AE og Pedersen KS. Easy and reliable assessment of the prevalence of porcine post-weaning diarrhoea. *Prev Vet Med*, Volume 220, November 2023. [Easy and reliable assessment of the prevalence of porcine post-weaning diarrhoea - PubMed](#)

Jakobsen, N., Goecke, N.B. & Pedersen, K.S. Evaluation of the diagnostic performance of a commercially available point-of-care test for post weaning diarrhoea in pigs-a pilot study. *Porc Health Manag* 8, 49 (2022). <https://doi.org/10.1186/s40813-022-00292-9>

Nielsen EO, Juel AS og Agerlin MV. Evaluering af kommercielt testkit til hurtig diagnostik af E. coli. Meddelelse nr. 1251, 2022. Tilgængelig på https://www.landbrugsinfo.dk/-/media/landbrugsinfo/public/b/9/5/meddelelse_1251_evaluering_testkit_e_coli.pdf

Pedersen, K. S. 2018. Selected diagnostic aspects of Porcine Intestinal Disease Complex in nursery pigs. Doctoral Thesis. University of Copenhagen.

Deltagere

Tekniker: Marlene Nytofte Nielsen

Dyrlæge: Annette Sønderholm Juel, Veterinært Laboratorium, Kjellerup, Landbrug & Fødevarer

Øvrig information

Afprøvning nr. 1927

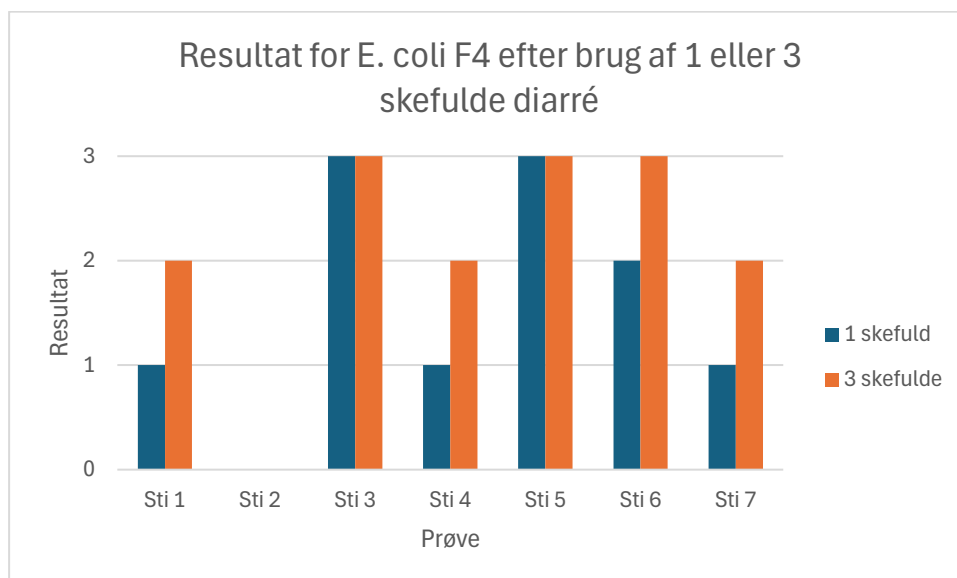
BC: 101468

//JAHP//

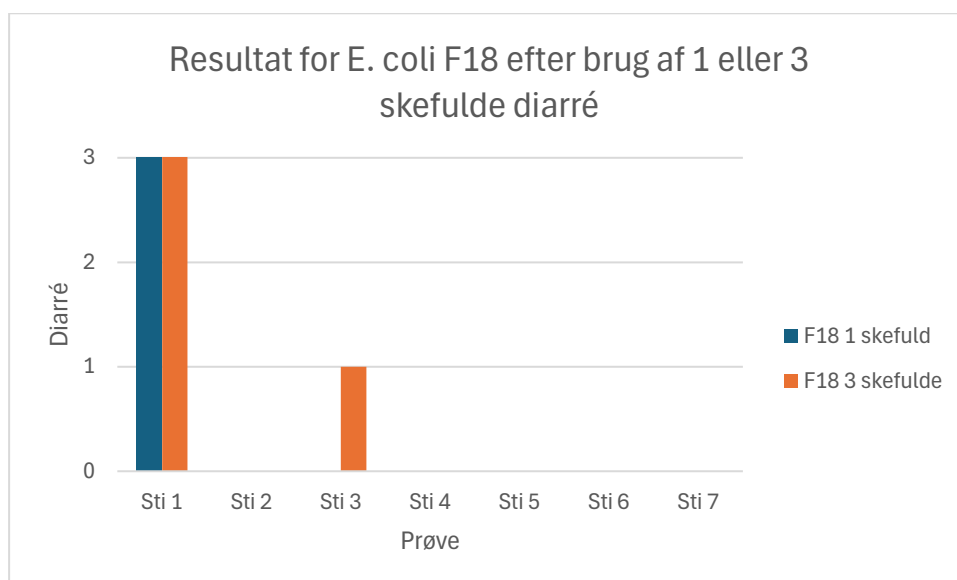
Appendiks

Effekt af at anvende en eller tre skefulde diarré ved testen

Figur A1 og A2 antyder, at RainbowPiglet bliver mere følsom, når der anvendes tre skefulde diarré i stedet for den ene skefuld, som anbefales i brugsanvisningen. Denne konklusion bør baseres på et større antal prøver.



Figur A1. Resultat af at teste for E. coli F4 med RainbowPiglet. Betydning af at anvende hhv. én (blå) og tre (orange) skefulde fæces ved testen. 0 = negativt resultat, 1 = svag reaktion, 2 = mellem reaktion og 3 = tydelig reaktion.



Figur A2. Resultat af at teste for E. coli F18 med RainbowPiglet. Betydning af at anvende hhv. én (Blå) og tre (orange) skefulde fæces ved testen. 0 = negativt resultat, 1 = svag reaktion, 2 = mellem reaktion og 3 = tydelig reaktion.

Figur A3. Brugsanvisningen til RainbowPiglet, som blev fulgt i afprøvningen. Der er dog anvendt tre skefulde ved testen i stedet for én skefuld (se foto 1 i figur A3).





■ Screw the top of the strip tube.

You must hear two separate clicks, for perforation of superior and inferior septa of the sample tube.

Leave the device **vertically on a flat surface** and wait for 10 minutes.

The liquid contained in the sample tube moves to the strip tube and slowly migrates along the strips.

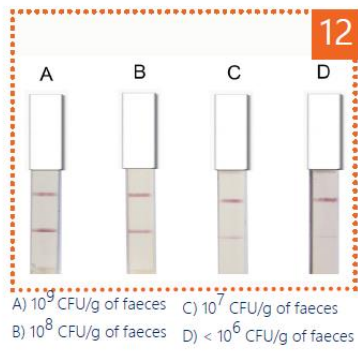
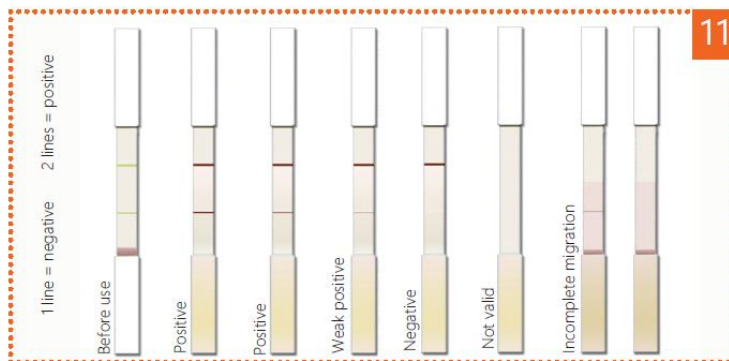


■ Sometimes, especially when the sample isn't homogenized, liquid migration can stop on one or more strips. In that case, tap the end of the strip tube on hard surface to allow migration to start again.



■ After 10 minutes, read the results using picture 11 as standard.

For *Clostridium perfringens* interpretation use picture 12.



Nom du produit	Rotavirus	E.coli F4 (K88)	E.coli F5 (K99)	E.coli F18	E.coli F41	Clostridium perfringens	Clostridium difficile	Cryptosporidium parvum
BIO K 351	×	×	×	×	×	×	×	×
BIO K 361		×	×	×	×			
BIO K 372	×	×		×		×		
BIO K 374	×	×	×	×	×	×	×	
BIO K 393	×	×				×		

Precautions for use

- Store kits in a dry place at room temperature.

- Wear gloves while carrying out the test.

The analysed sample shouldn't be too concentrated. Do not prepare a sample volume greater than a spoonful.

- Dispose of the device in keeping with legislation on environment protection and management of biological waste.