SEGES Svineproduktion

MEDDELELSE

Nr. 1183

Udgivet 17. oktober 2019

DESINFEKTION AF GRISE OG STALDMILJØ FOR AT NEDSÆTTE FOREKOMSTEN AF HUSDYR-MRSA

Poul Bækbo[a], Per Bendiks Jeppesen[b] og Øystein Angen[c]

[a]SEGES Svineproduktion, Den rullende Afprøvning, [b]Aahus Universitet, [c] Statens Serum Institut

STØTTET AF

Svineafgiftsfonden

Hovedkonklusion

Desinfektionsmidlet LQV var ikke i stand til at give en reduktion i forekomsten af MRSA i grisene eller i staldluften ved forstøvning af midlet ud over grisene. Der fandtes heller ingen effekt af LQV på grisenes produktivitet og sygdomsforekomst.

Sammendrag

Ved en mindre undersøgelse, en såkaldt screening, er der ikke fundet en positiv effekt af desinfektionsmidlet LQV på forekomsten af husdyr-MRSA i grisene eller i staldluften, selvom LQV har udvist stor drabseffekt på MRSA ved laboratorieundersøgelser.

Husdyr-MRSA forekommer i hovedparten af danske svinebesætninger, og staldpersonalet er ofte bærere af husdyr-MRSA på huden og i næsen. For om muligt at reducere forekomsten af humane bærere er der interesse for, om tiltag i staldene gør det muligt at nedsætte forekomsten af MRSA i grisene og i staldmiljøet. Der er derfor i denne afprøvning (screening) undersøgt, om det nye desinfektionsmiddel LQV bl.a. ved gentagen grundig forstøvning ud over grisene kunne nedsætte forekomsten af MRSA.

Afprøvningen er gennemført i første halvdel af 2019 i SEGES-besætningen Grønhøj, hvor tre forsøgskamre med hver 30 grise og tre tilsvarende kontrolkamre med hver 30 grise indgik i undersøgelsen. Afprøvningen er gennemført samtidigt i alle seks kamre over en seks ugers observationsperiode og er et samarbejde mellem Statens Serum Institut, Aarhus Universitet og SEGES Svineproduktion.

Baggrund

MRSA står for Methicillin resistente *Staphylokoccus aureus*, dvs. en stafylokokbakterie, der er resistent for antibiotikummet methicillin, hvilket tillige gør den resistent overfor alle andre beta-lactamer herunder penicillin og ofte også overfor andre antibiotika. Denne type stafylokok giver normalt ikke anledning til sygdom hos grise. Hos mennesker kan den give hudinfektioner og småbylder i huden. Langt de fleste mennesker, der bærer bakterien (i næsen og på huden), er såkaldte raske smittebærere, der ikke er syge. Oftest vil både dyr og mennesker, der bærer bakterien, ikke have tegn på smitte. På hospitalerne udgør stafylokokker og herunder MRSA en udfordring med såkaldte hospitalsinfektioner, der bl.a. kan give blodforgiftning (septikæmi). MRSA har været kendt siden 1960'erne og udgør en stigende udfordring på hospitalerne både i Danmark og i resten af verden.

Siden 2005 er en speciel husdyrtype-MRSA med betegnelsen CC398 (husdyr-MRSA) påvist hos grise i Centraleuropa, hvor den hurtigt fik en stor udbredelse specielt i svinebesætninger men også i kalve- og fjerkræbesætninger og i mindre udstrækning i hesteholdet. Husdyr-MRSA blev første gang påvist i en dansk gris i 2007. Ved screening af danske svinebesætninger i 2016 fandtes, at husdyr-MRSA må forventes at forekomme i 88 % af danske svinebesætninger. Husdyr-MRSA er i dag også påvist hos mink, heste og kvæg i Danmark. Bakterien er tilpasset dyr og overlever derfor normalt kun kort tid hos de fleste mennesker. Hovedparten af de personer, der bliver smittet ved besøg i en smittet svinebesætning, vil tabe bakterien spontant i løbet af én eller få dage. Husdyr-MRSA spredes mellem besætninger primært ved handel af dyr, men også mennesker betragtes at udgøre en smitterisiko.

For at mindske risikoen for smitte til det omgivende samfund (inkl. hospitalerne) er der et klart ønske om at reducere forekomsten og smittemængden i danske svinebesætninger. Der er derfor et stort behov for at undersøge, hvordan smitteniveauet kan nedsættes markant.

Projektets formål var at undersøge, om smitteniveauet med husdyr-MRSA kunne nedsættes væsentligt i grisene og i stalden under anvendelse af et nyt desinfektionsmiddel, LQV.

Undersøgelsen blev gennemført som en screening af et desinfektionsmiddel (LQV) udviklet på Aarhus Universitet og forhandlet gennem firmaet PulmoPharma. Produktet LQV består af flere komponenter og indeholder en radikalt ny, synergistisk mekanisme baseret på to forbindelser (N, N-didecyl-N-methyl-poly (oxyethyl) ammoniumpropionat og poly-hexamethylen-Guanidinium-chlorid). Denne synergistiske mekanisme har vist sig at være særdeles effektiv til at eliminere mikroorganismer. LQV har ved laboratorieundersøgelser vist at være meget effektivt mod MRSA med en hurtig og sikker drabseffekt mod MRSA-bakterierne selv ved meget lave koncentrationer.

PulmoPharma leverede LQV-produkterne til afprøvningen. Undersøgelsen blev foretaget i samarbejde med Aarhus Universitet og Statens Serum Institut (SSI), og sidstnævnte var ansvarlig for MRSA-analyserne.

Materialer og metoder

Gennemførelse

Der blev testet én teknologi (LQV) på samme tid under anvendelse af seks såkaldte klimakamre i SEGES-besætningen Grønhøj. Desinfektionsmidlet LQV indgår i to produkter, ét sæbebaseret produkt og ét vandbaseret produkt. Begge produkter indeholder de to aktive stoffer, der er virkningsprincippet i LQV.

Besætningsbeskrivelse

Seks klimakamre på Grønhøj blev anvendt. Disse kamre er sammenlignelige i opbygning og indretning med almindelige, små staldsektioner.

Dimensioner på klimakammer:

- 4,72 m brede x 5,80 m lange x 2,34 m høje
- Der er to stier pr. rum. Hver sti er 2,36 m bred x 4,77 m lang
- Der er plads til 30 grise (15 pr. sti)

Afprøvningen blev samtidigt gennemført i seks klimakamre med tre forsøgskamre og tre kontrolkamre (dvs. tre gentagelser):

- 30 grise pr. kammer fordelt med 15 grise i hver af to stier
- Grisene havde samme størrelse ved indsættelse inden for et par af forsøgs- og kontrolkamre
- Forsøgsperioden var seks uger (42 dage)

I hvert klimakammer blev næsesvaberprøver undersøgt for MRSA fra en stikprøve af grisene samt fra prøver fra staldluften. Bhandling med antibiotika samt årsag til behandling og døde grise blev registreret. Endvidere blev der registreret en total-vægt på alle grisene i hvert klimakammer ved start og ved afslutning af afprøvningsperioden.

Forsøgskamre:

- Forsøgskamrene blev rengjort og desinficeret med LQV-sæbeproduktet (virkningstid: minimum en time)
- Grisene blev afvasket med sæbeproduktet ved indsættelse (i stierne i det rengjorte kammer)
- Grisene blev overbruset med en motoriseret forstøver to gange om ugen i seks uger med det vandbaserede LQV-produkt
    - Det blev sikret, at alle grise blev overbruset på ryg, hoved og begge sider (rød frugtfarve i vandet)
    - Overbrusning skete fast på tirsdage og fredage
- Der blev skiftet til ren kedeldragt og støvler ved indgangene til de tre forsøgskamre

Prøveudtagning:

- 20 tilfældigt udvalgte og øremærkede grise (individuelt nr.) blev næsesvabret pr. kammer (dvs. 120 prøver pr. gang)
    - Der blev udtaget prøver af de samme grise tre gange i forløbet (dvs. i alt 360 prøver):
        - Ved indsættelse (før sæbeafvaskning)
        - Ved tredje og sjette uge efter indsættelse (før overbrusning)
- Der blev udtaget en støvprøve med airsampler tre gange á ca. 15,5 timers varighed (midt i kammeret i ca. 150 cm's højde):
    1. Natten efter indsættelse
    2. Natten før sampling efter tredje uge
    3. Natten før sampling efter sjette uge

Der blev ikke flyttet grise mellem de enkelte kamre i afprøvningsperioden. Ved indgangen til hvert forsøgskammer blev der skiftet kedeldragt og støvler, så der i videst muligt omfang ikke blev overført støv fra resten af besætningen ind i forsøgskamrene.

Dosering af LQV

Produktet blev blandet med vand i forholdet 1:9, dvs. til en liter færdig blanding anvendtes 100 ml af produktet til 900 ml vand. Blandingen blev rystet grundigt inden brug, da LQV består af to aktive bestanddele, der skal blandes godt.

Registreringer

Forekomsten af MRSA i næsesvaberprøver og i luftprøverne er undersøgt på SSI ved dyrkning efter deres laboratorie-protokol for MRSA-undersøgelser (se Appendiks).

Produktionsresultater: Grønhøjs egne registreringsskemaer blev anvendt til registrering af udtagne og døde grise. For alle seks kamre blev grisene vejet ind og ud med en totalvægt pr. kammer.

Da der er tale om en pilotundersøgelse, er der ikke foretaget en beregning af dimensionering (antal gentagelser).

MRSA-resultaterne blev opgjort af SSI. Prævalensen af MRSA-bærergrise ved hver af de tre prøveudtagningstider samt en kvantitativ bestemmelse af mængden af MRSA er opgjort og analyseret ved en T-test for signifikans (med signifikans ved en P-værdi på under 0,05).

SEGES har opgjort registreringerne af daglig tilvækst, behandlinger og døde/udtagne. Der er kun foretaget en deskriptiv analyse.

Resultater og diskussion

MRSA i grisene

Da der er store forskelle i de numeriske værdier for MRSA-forekomsten i grisene (CFU/ml), er det valgt at opgøre forekomsten af MRSA i grisene for hvert kammer som et geometrisk gennemsnit for de 20 undersøgte grise pr. kammer (Tabel 1). Der er udeladt tre meget høje værdier for tre enkelte grise (300.000 CFU/ml), da disse betragtes som urealistisk høje.

Tabel 1. MRSA i grisene
Angivet som geometrisk gennemsnit af CFU/ml (Coloni Forming Units = antal bakterier)

Klimakammer K = kontrol F = forsøg	Ved indsættelse	Ved tre uger opholdstid	Ved seks ugers opholdstid
K1	636	41	46
K2	2838	945	104
K3	1975	1192	19
Gennemsnit (kontrol)	***1527***	***309***	***38***
F1	1771	1976	215
F2	4831	754	153
F3	4227	2059	5
Gennemsnit (forsøg)	***3307***	***1246***	***53***

Tabel 1 viser ingen umiddelbar effekt af LQV og der er da heller ikke funden nogen statistisk forskel mellem kontrol- og forsøgsgruppen i antal MRSA i grisene på noget tidspunkt (P-værdier i T-testen viser 0,29; 0,9 og 0,18 for hhv. MRSA-forekomsten 'ved indsættelse', 'ved tre' og 'ved seks uger').

I begge grupper er der fundet en væsentlig reduktion i forekomsten af MRSA i løbet af de seks uger.

MRSA i staldluften

Der var relativ sparsom forekomst af MRSA på luftfiltrene og mange helt uden MRSA. De få værdier tillader ingen reelle konklusioner (Tabel 2). Der er dog ikke umiddelbart noget der tyder på, at LQV har kunnet nedsætte MRSA-forekomsten i staldluften

Tabel 2. MRSA i staldluften

Angivet som CFU/mg støv (Coloni Forming Units = antal bakterier)

Klimakammer K = kontrol F = forsøg	Ved indsættelse	Ved tre uger opholdstid	Ved seks ugers opholdstid
K1	10912	3361	0
K2	0	4634	0
K3	0	2948	3310
F1	0	4682	2142
F2	0	-	0
F3	0	1201	0

Produktionsresultater og behandlinger

Der var ingen forskel i daglig tilvækst mellem kontrol- og forsøgskamrene (Tabel 3). Der var en numerisk større andel af grisene, der blev behandlet i forsøgsgruppen, men dette skyldtes primært, at det i én sti var nødvendigt at behandle alle 15 grise for diarré. På tværs af de to grupper skyldtes 94 % af alle behandlinger enten diarré eller halthed.

Der blev udtaget fire grise til sygesti primært grundet halthed (tre fra kontrolgruppen og én fra forsøgsgruppen) og to grise døde (én fra hver gruppe).

Tabel 3. Daglig tilvækst og antibiotikabehandlede grise

Klimakammer K = kontrol F = forsøg	Indsættelsesvægt kg (gennemsnit)	Daglig tilvækst g/dag (gennemsnit)	Antal antibiotika-behandlede grise
K1	47	1186	3
K2	36	1090	9
K3	32	929	8
Gennemsnit (kontrol)	***38***	***1068***	***6,7***
F1	48	1226	4
F2	35	1064	6
F3	32	922	22
Gennemsnit (forsøg)	***38***	***1071***	***17,3***

Konklusion

Ved det anvendte afprøvningsdesign og ved den anvendte brug af desinfektionsmidlet LQV, blandt andet med to ugentlige forstøvninger af midlet ud over grisene, var det ikke muligt at påvise en reduktion i forekomsten af MRSA i grisene eller i staldluften som følge af LQV. Der fandtes heller ingen effekt af LQV på grisenes produktivitet og sygdomsforekomst.

Deltagere

Tekniker: Henry Kousgaard Albæk

Andre deltagere: Grønhøjs staldpersonale

Afprøvning nr. 1543

NAV nr.: 1167

//CSK//

Dyregruppe:	Smågrise
Fagområde:	Human sundhed,
Nøgleord:	MRSA, Arbejdsmiljø, desinfektionsmiddel

Appendiks

Laboratorieundersøgelser i forbindelse med MRSA-interventionsforsøg med LQV

Næsesvaberprøver

Prøverne består af Eswabs (1 ml) udtaget fra grisenes næser.

Prøverne opbevares på køl og transporteres til laboratoriet, hvor de ankommer den efterfølgende dag.

100µL af den primære prøve (Eswab) overføres til opformeringsrør med 6,5 % NaCl MHII-bouillon (SIGMA). Rørene inkuberes ved 35 °C i 18-24 timer.

Den primære prøve fortyndes i tifold fortyndinger med 0,9 % saltvand med 0,1 % Triton-X-100. 100µL af hver fortynding og primær prøve dyrkes på MRSA2-plader (MRSA2 Brilliance, OXOID). MRSA2-pladerne inkuberes ved 35 °C i 22-24 timer.

MRSA vokser med karakteristiske blå kolonier på disse agarplader, og antal kolonier registreres og bruges til at bestemme prøvens kimtal.

En koloni pr. dyr bekræftes som MRSA ved PCR.

Hvis disse plader er negative, udsås der fra opformeringsbouillonen 10 ul på en MRSA2-plade, og disse inkuberes ved 35 °C i 22-24 timer. Ved vækst af karakteristiske kolonier registreres prøven som MRSA-positiv. I resultatopgørelsen vil dette registreres som 5 CFU/ml (halvdelen af detektionsgrænsen ved direkte udsæd).

En koloni pr. dyr bekræftes som MRSA ved PCR.

Luftprøver

Filtrene vejes og overføres til et nuncrør.

Der tilsættes 5 ml 0,85 % NaCl tilsat 0,05 % Tween 80 og røret rystes i 30 minutter ved stuetemperatur. MRSA kvantificeres ved kimtælling på MRSA2 agarplader ved udsæd af 0,5 ml og 0,1 ml af den ufortyndede væske.

Overfør 1 ml til rør med 5 ml 6,5 % NaCl MHII-bouillon (SIGMA), denne stilles ved 35 °C i 18-24 timer. Derefter udsæd af 10 ul (blå podenål) til MRSA2-agarplader.

MRSA2 agarplader inkuberes 22-24 timer ved 35 °C og aflæses som positiv eller negativ.

En koloni pr. kammer bekræftes som MRSA ved PCR.

Tlf.: 33 39 45 00
svineproduktion@seges.dk

Ophavsretten tilhører SEGES. Informationerne fra denne hjemmeside må anvendes i anden sammenhæng med kildeangivelse.

Ansvar: Informationerne på denne side er af generel karakter og søger ikke at løse individuelle eller konkrete rådgivningsbehov.
SEGES er således i intet tilfælde ansvarlig for tab, direkte såvel som indirekte, som brugere måtte lide ved at anvende de indlagte informationer.