

FORSØG MED NEDSÆTTELSE AF FOREKOMSTEN AF MRSA I GRISE OG I STALDMILJØ

Poul Bækbo^a, Helle Mølgaard Sommer^a, Karl Pedersen^b, Martin Weiss Nielsen^b, Mette Fertner^b, Carmen Espinosa-Gongora^b

^a SEGES Svineproduktion, Den rullende Afprøvning

^b DTU, Danmarks Tekniske Universitet

STØTTET AF

Svineafgiftsfonden

Hovedkonklusion

Det var ikke muligt at påvise en reduktion i forekomsten af dyre-MRSA blandt grisene eller i staldmiljøet ved anvendelse af de testede desinfektionsteknologier. Med hensyn til grisenes produktivitet ligesom forekomsten af antibiotikabehandlinger og diarrébakterier var det ligeledes ikke muligt at påvise en ændring.

Sammendrag

Ved denne afprøvning har ingen af de testede desinfektionsteknologier vist sig i stand til at nedsætte forekomsten af dyre-MRSA blandt grisene eller i staldmiljøet. Grisenes produktivitet blev heller ikke forbedret, ligesom forekomsten af antibiotikabehandlinger og forekomsten af diarréfremkaldende bakterier var upåvirket af teknologierne. Testen er gennemført som en såkaldt screening, hvorunder kun teknologier med en markant stor effekt ville kunne udpeges.

Dyre-MRSA er vidt udbredt i danske svinebesætninger. Bakterien giver ikke sygdom hos grisene, men mennesker, der arbejder i staldene, kan blive smittet af grisene og bære bakterien på huden og i næsen for en periode. De fleste staldmedarbejdere er såkaldt sunde smittebærere (raske personer), som kan smitte andre mennesker uden for stalden. For at nedsætte denne risiko er der et ønske om at undersøge, om der er gode og egnede desinfektionsmetoder, der effektivt kan nedsætte forekomsten af dyre-MRSA blandt grisene og i staldmiljøet. På denne måde er det muligt at nedsætte risikoen, for at staldmedarbejderne bliver bærere af bakterien.

Afprøvningen er gennemført i to svinebesætninger – en slagtesvinebesætning (A), hvor fire desinfektionsteknologier blev testet, og i SEGES' egen besætning, Grønhøj (B), hvor en femte teknologi blev testet. Alle desinfektionsteknologierne har været etableret i en hel staldsektion, og en

helt identisk sektion har fungeret som kontrolsektion. Disse to sektioner har indgået i testen samtidigt. De fire teknologier er testet i to runder, mens den femte kun blev testet i én runde. MRSA er undersøgt ved næsesvaberprøver af en stikprøve af grisene samt ved luftprøver og støvprøver fra inventaret. Til vurdering af forekomsten af diarréfremkaldende bakterier har man udtaget sokkeprøver fra stibunden. Tilvækst, dødelighed og antibiotikabehandlinger er registreret på sektionsniveau. Alle prøver er udtaget umiddelbart efter indsættelse af grisene samt efter henholdsvis fire og otte uger.

Baggrund

MRSA står for Methicillin resistente *Staphylococcus aureus*, det vil sige en stafylokok-bakterie, der er resistent for antibiotikummet methicillin, hvilket tillige gør den resistent overfor alle andre beta-lactamer, herunder blandt andet penicillin og cephalosporiner samt ofte også overfor andre typer af antibiotika. Typisk er bakterien dog følsom overfor andre antibiotikatyper.

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. Oftest vil både dyr og mennesker, der bærer bakterien, ikke have tegn på smitte. På hospitalerne udgør stafylokokker og dermed MRSA en udfordring med såkaldte hospitalsinfektioner, der blandt andet kan give blodforgiftning (septikæmi). MRSA har været kendt siden 1960'erne og udgør en stigende udfordring på hospitalerne i Danmark og resten af verden.

I 2005 blev en dyrebåren MRSA (CC398) påvist i Holland hos grise, staldmedarbejdere i svinebesætninger og medlemmer af deres husstand (1). I Danmark er forekomsten af smittede svinebesætninger steget fra 3,5 % i 2008 til hele 88 % i 2016 (2). Bakterien er ligeledes påvist i mindre grad hos andre husdyr, herunder slagtekalve, malkekøer, fjerkræ, mink og heste.

MRSA CC398 blev første gang påvist i en dansk gris i 2007. MRSA-husdyrtypen (CC398) 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 få dage. MRSA CC398 spredes mellem besætninger primært ved handel af dyr, men også mennesker betragtes at udgøre en væsentlig smitterisiko.

For at mindske risikoen for at MRSA CC398 smitter til det omgivende samfund (hospitalerne), er der et klart ønske om at reducere forekomsten og smitemængden i danske svinebesætninger. Der er derfor et stort behov for at undersøge, hvordan smitteniveauet kan nedsættes markant, og hvilke cost-effektive teknologier vi har til rådighed.

Projektets formål var at undersøge, om smitteniveauet i grise og i staldluft i MRSA-smittede besætninger kan nedsættes væsentligt under anvendelse af nye desinfektionsteknologier.

Undersøgelsen er gennemført som en såkaldt screening af mange desinfektionsteknologier, hvorved kun teknologier med stor effekt kunne udpeges. Undersøgelsen er gennemført i samarbejde med Veterinærinstituttet, DTU, som har været projektleder på projektet.

Materialer og metoder

Der er undersøgt i alt fem forskellige desinfektionsmetoder i to forskellige besætninger:

Besætning A:

1. Recirkulering og ozon (firmaet BioAqua)
2. Elektrokemisk ladet vand (firmaet Vandion)
3. Støvdæmpning (firmaet Aks2tal)
4. Staldren (firmaet Jorenku)

Besætning B:

5. Fotokatalytisk maling på vægge og skillerum (firmaet Detoxy)

Nærmere beskrivelse af virkningsprincippet i de enkelte desinfektionsteknologier (Appendiks 1).

Besætningsbeskrivelser

Besætning A:

Besætningen er en slagtesvinebesætning, der modtager 30 kg's grise fra eget sohold beliggende på en anden lokalitet. Sundhedsstatus er SPF + MYK + Ap6 + Ap12. Stalden består af otte identiske sektioner fordelt med fire sektioner på hver side af en central midtergang. Hver sektion huser 500 slagtesvin fordelt på 28 stier á 2,4 m x 6,3 m. Sektionerne er på 493 m² og 1.380 m³.

Der fodres med vådfoder i langkrybber, og ventilationen er diffus. Der anvendes halm som beskæftigelsesmateriale.

Alle otte sektioner blev fyldt med 30 kg's grise over en fireugers periode, så to sektioner blev fyldt samtidigt. Disse to sektioner udgjorde henholdsvis en forsøgssektion og en kontrolsektion. Opholdstiden i sektionen var på ca. 11 uger, så de første grise blev leveret til slagtning efter ca. ni uger. Cyklus i sektionerne var på 13 uger. Prøveindsamlingen i stalden blev afsluttet efter otte uger i hver sektion.

Der er vasket mellem hvert hold, men der er ikke anvendt sæbe og desinfektion. Efter vask er der udtørret med varmekanon i to dage til 30 °C.

Besætning B:

Besætningen er SEGES' egen forsøgsbesætning, Grønhøj. Sundhedsstatusen er SPF. Til undersøgelserne anvendtes to ens mindre staldsektioner (klimakamre), henholdsvis en forsøgssektion og en kontrolsektion.

Dimensioner på staldsektioner (klimakammer):

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

Grisene blev indsat ved 15-20 kg, og prøveindsamlingen i stalden blev afsluttet efter otte uger i hver sektion.

Før indsættelse af grise, i hver afprøvningsrunde, blev alle stier vasket og desinficeret. Stierne var tørre ved indsættelse, og rum- og gulvtemperatur var ens. Ventilationsanlægget, rum- og gulvtemperatur, foderautomater, drikkekopper, overbrusningsanlæg og beskæftigelsesmateriale blev tjekket inden indsættelse.

Gennemførelse

I undersøgelsen har hver desinfektionsteknologi lagt beslag på to staldsektioner på samme tid – en sektion, hvor teknologien er anvendt, og en sektion som kontrolsektion. Hver teknologi er afprøvet to gange (to runder), på nær teknologi 4 (Staldren), der kun er afprøvet én gang (én runde).

Der er ikke flyttet grise mellem de enkelte sektioner, der er anvendt i afprøvningsperioden. Medarbejderne skiftede støvler ved indgangen til samtlige forsøgssektioner.

Grise, der skulle i sygesti/aflastningssti, er så vidt muligt forblevet i sektionen. Hvis grisene blev udtaget fra sektionen, er de udvejet.

Hver sektion er undersøgt for MRSA (DTU) og diarrésmitstoffer (diarrefremkaldende bakterier) (DTU). Endvidere er grisenes produktivitet og antibiotikabehandlinger registreret (SEGES).

Registreringer

Forekomsten af MRSA er undersøgt både i grisene og i staldmiljøet:

Tre gange i produktionsforløbet (ved indsættelse af grise samt ved fjerde uge og ottende uge) er følgende prøvemateriale udtaget fra hver sektion (se Appendiks 2 for nærmere beskrivelse):

- Næsesvaberprøver fra grisene
 - Besætning A: 28 grise (en gris pr. sti af hver af de 28 stier);
 - Besætning B: ti grise (fem grise pr. sti i hver af de to stier)
- Luftprøve med en Sartorius sampler
 - Måletid: fem min. pr. måling og to prøver pr. gang
- Støvprøver fra inventaret (to prøver pr. sektion)
- Prøver fra overfalden af stiskillerum (kun besætning B)
 - To svaberprøver fra et 10 x 10 cm område på væggen

Herudover er der udtaget en sokkeprøve til undersøgelse for diarrésmitstoffer. Sokkeprøven er udtaget fra hver sektion tre gange i hver runde (ved indsættelse af grise, ved fjerde uge og ved ottende uge).

Hver prøveudtagning er startet i forsøgssektionen og herefter fortsat i kontrolsektionen.

Grisenes produktivitet er opgjort som daglig tilvækst og dødelighed. Alle antibiotikabehandlinger er registreret.

Registreringer:

- Samlet indgangs- og afgangsvægt
- Dato og vægt for døde grise
- Dato og vægt for grise, der fjernes fra sektionen
- Alle antibiotikabehandlinger med besætningens diagnoser
- Antal grise leveret pr. sektion pr. uge til slagteriet

Undersøgelser for MRSA og andre smitstoffer

MRSA blev dyrket fra næsesvaberprøver, luft- og støvprøve og kvantificeret på laboratoriet på DTU efter dettes forskrifter (se Appendiks 2 for nærmere beskrivelse). Sokkeprøverne blev undersøgt ved DTU laboratoriets standard PCR-metode for forekomst af diarrésmitstofferne *E.coli* (F4 & F18), *Lawsonia intracellularis* og *Brachyspira pilosicoli*.

Statistiske analyser

Afprøvningen var tilrettelagt og dimensioneret, så der kun kunne påvises desinfektionsmetoder med en markant effekt. Med kun to gentagelser pr. desinfektionsteknologier skulle forskellen i daglig tilvækst være på ca. 125 g/dag, før det med 80 % sikkerhed ville kunne identificeres (være signifikant) i den statistiske analyse. Tilsvarende skulle forskellen i forekomsten af MRSA i kontrol versus forsøgsgruppe være meget stor, for med 80 % sikkerhed at kunne identificere en signifikant forskel. Er forekomsten eksempelvis på 98 % positive (smittede) grise, skal forekomsten reduceres til 3 % for med 80 % sandsynlighed at kunne identificeres som værende signifikant forskellig fra kontrolgruppen.

MRSA

Tællinger fra dyrkning af MRSA blev indtastet i et Excel-regneark og derfra overført til R version 3.4.1, hvor data blev log-transformeret, plottet og testet for statistisk signifikans.

Produktivitet og behandlinger

Der blev udført statistiske analyser på daglig tilvækst. De anvendte modeller udgjorde mixed modeller med hold som random effekt og blev analyseret med Proc Mixed i SAS. Hver forsøgsgruppe blev inden for samme hold sammenlignet med en tilhørende kontrolgruppe. Responsvariablen var Daglig tilvækst, og de forklarende variable var Gruppe (forsøg og kontrol), Startvægt og Hold (runde 1 og 2). Da man var interesseret i at teste de enkelte forsøgsgrupper i forhold til kontrollen, blev Dunnetts test anvendt. Data fra de to besætninger blev analyseret hver for sig, idet datastrukturen varierede en del.

Resultater

MRSA

Det følgende indeholder det samlede resultat (se Appendiks 3 for en detaljeret gennemgang af MRSA-resultaterne).

Teknologi 1, BioAqua

BioAqua blev testet i to afprøvningsrunder i besætning A.

Fundene var overordnet set ens i de to forsøgsrunder, og det var ikke muligt at påvise en effekt af behandlingen overfor MRSA-niveauerne.

Det var muligt at påvise en stor variation i MRSA-niveauerne i næsesvaberprøver, og et generelt fald i cfu/svaber hen over forsøgsperioden blev observeret – ca. en logaritmisk enhed (CFU = antal bakterier). Dette afspejler, hvad der tidligere er konkluderet, nemlig at MRSA ses i størst antal hos fravænningsgrise og i noget lavere antal hos slagtesvin.

Et tilsvarende fald i MRSA-kimtal kunne derimod ikke påvises i hverken luft- eller støvprøver, hvor der tværtimod skete en vis stigning over tid. Der syntes derved at ske en ophobning af MRSA over tid i miljøet, til trods for at antallet af MRSA i næsen på grisene faldt.

Teknologi 2, Vandion

Denne teknologi blev afprøvet over to afprøvningsrunder i besætning A.

Niveauerne af MRSA i næsesvaberne faldt hen over forsøgsperioden i begge grupper, og der var samlet set ikke forskel mellem forsøgs- og kontrolgrupperne.

I både luft- og støvprøver forekom der en reduktion fra første til anden prøvetagning men igen en stigning ved tredje prøvetagning. Der blev ikke observeret lavere niveauer eller større reduktion i forsøgsgruppen i forhold til kontrolgruppen, og der kunne således ikke påvises nogen effekt af behandlingen på MRSA-niveauerne.

Teknologi 3, Aks2tal

Det støvbindende produkt blev afprøvet i besætning A i to afprøvningsrunder.

I begge forsøgsrunder blev der observeret en reduktion i kimtallene i næseprøverne henover forsøgsperioden på ca. en logaritmisk enhed. Faldet var ens i kontrol- og forsøgsgrupperne. I luft- og støvmålingerne blev der i første afprøvningsrunde observeret en mindre stigning i niveauerne mellem anden og tredje prøvetagning, mens der i anden afprøvningsrunde blev observeret et mindre fald. Behandlingen bevirkede, at mængden af støv i luften blev reduceret, og overflader efterhånden fik et tyndt, fedtet lag. Det var derfor forventet, at der ville være færre MRSA i luften og eventuelt en større deponering af MRSA i støvprøverne i forsøgsgruppen. Dette kunne imidlertid ikke eftervises. Selvom frekvensen af behandlinger med produktet blev forøget fra første til anden afprøvningsrunde, ændrede dette billede sig ikke. Samlet set kunne der ikke påvises nogen effekt af behandlingen på niveauerne af MRSA i nogen af prøvetyperne.

Teknologi 4, Staldren

Produktet Staldren fra firmaet Jorenku blev testet i kun én afprøvningsrunde i besætning A.

I næsesvaberprøverne sås et fald i MRSA-tallene hen over prøvetagningsperioden, med en reduktion på ca. en logaritmisk enhed fra højeste til laveste niveauer. Dette er i lighed med resultaterne fra andre afprøvningsserier, og der var ikke nogen forskel på forsøgs- og kontrolgruppen. Niveauerne af MRSA lå generelt lidt højere i kontrolgruppen i støvprøverne, men samlet set for luft og støvprøver kunne der ikke påvises nogen forskel. Der kunne således samlet set ikke påvises klare indikationer på en effekt af Staldren på MRSA-niveauerne i stalden.

Teknologi 5, Detoxy

Denne teknologi blev afprøvet i to runder i Besætning B.

Imidlertid var MRSA-niveauerne i den første forsøgsrunde generelt meget lave, og imellem første og anden forsøgsrunde blev der derfor skiftet leverandør af grise med et højere indgangsniveau af MRSA-bakterier. Ved afprøvningen af denne teknologi blev der taget endnu en type prøver. Da effektivitet på den malede overflade var af afgørende betydning for effektivitetsvurderingen, blev overfladeprøver også indsamlet.

Resultaterne fra første afprøvningsrunde var desværre meget usikre, eftersom de indsatte grise ved indsættelsen havde ubetydelige mængder af MRSA i næsehulen. Det var således ikke meningsfuldt at udføre statistiske beregninger for at vurdere eventuelle ændringer i MRSA-niveauer. For at rette op på dette blev der til anden afprøvningsrunde indkøbt grise med højere koncentrationer af MRSA fra en anden leverandør. Resultaterne fra denne anden runde viste ingen forskel på MRSA-niveauer i næsehulen mellem grupper af grise, mens niveauerne i luftprøverne var højere i forsøgsgruppen end i kontrolgruppen. Til gengæld var niveauerne i både støv og på overflader lavest i forsøgsgruppen.

Diarrésmittoffer

I besætning A blev der kun påvist *Lawsonia* og *E.coli* F18. I besætning B (teknologi 5) blev der udover *Lawsonia*, *E.coli* F18 påvist *Brachyspira pilosicoli* – dog i meget små mængder, der ikke tillader nogen konklusion (data ikke vist).

For begge infektioner (*Lawsonia* og *E.coli*) var det generelle billede, at de forekom på et relativt højt niveau ved indsættelse af grisene men faldt gennem produktionsforløbet til næsten nul otte uger efter indsættelse (se Tabel 1 og Tabel 2). Der fandtes ingen systematisk forskel mellem forsøgs- og kontrolgrupperne for forekomsten af de to diarrésmittoffer ved nogen af desinfektionsteknologierne.

Tabel 1. Teknologi 1-5. Forekomst af *Lawsonia intracellularis* (antal/gram gødning)

Teknologi	Forsøgsrunde	Forsøgsgruppe	Ved indsættelse	Fire uger	Otte uger
1 BioAqua	1	Kontrol	5080	58	0
		Forsøg	8490	184	-
	2	Kontrol	15000	98	0
		Forsøg	-	459	-
2 Vandion	1	Kontrol	1760	82	0
		Forsøg	3880	23	-
	2	Kontrol	2730	304	0
		Forsøg	4110	444	57
3 Aks2tal	1	Kontrol	2560	12	0
		Forsøg	55	45	0
	2	Kontrol	17400	65	0
		Forsøg	2710	147	0
4 Staldren	1	Kontrol	-	735	-
		Forsøg	-	6630	336
5 Detoxy	1	Kontrol	3	0	0
		Forsøg	6	0	0
	2	Kontrol	0	-	42
		Forsøg	0	768	9

Tegnet "-" markerer, at der ikke var tilstrækkeligt materiale til at gennemføre analysen.

Tabel 2. Teknologi 1-5. Forekomst af *E.coli*, F18 (antal/gram gødning)

Teknologi	Forsøgsrunde	Forsøgsgruppe	Ved indsættelse	Fire uger	Otte uger
1 BioAqua	1	Kontrol	24	0	0
		Forsøg	476	0	-
	2	Kontrol	1170	0	0
		Forsøg	-	0	-
2 Vandion	1	Kontrol	0	21	0
		Forsøg	122	115	-
	2	Kontrol	275	0	0
		Forsøg	4130	0	0
3 Aks2tal	1	Kontrol	0	0	0
		Forsøg	29	0	0
	2	Kontrol	501	0	0
		Forsøg	0	0	0
4 Staldren	1	Kontrol	-	0	-
		Forsøg	-	581	20
5 Detoxy	1	Kontrol	123	0	0
		Forsøg	0	0	15
	2	Kontrol	0	-	0
		Forsøg	0	277	0

Tegnet "-" markerer, at der ikke var tilstrækkeligt materiale til at gennemføre analysen.

Produktionsresultater

Produktionstallene er opgjort pr. gruppe (kontrol og forsøg) pr. besætning (Tabel 3 og Tabel 4). Den daglige tilvækst er analyseret statistisk (se næste afsnit), og rådata er optegnet pr. forsøg, pr. hold for de to besætninger i henholdsvis Figur 1 og Figur 2. En analyse af, om dødeligheden blev reduceret i forsøgsgrupperne, er udeladt, da nedenstående data ikke tyder på nogen reduktion. Det samme gælder for behandlingsfrekvensen. Behandlingsfrekvensen er udregnet som det totale antal påbegyndte enkeltdyrsbehandlinger divideret med det totale antal indsatte grise.

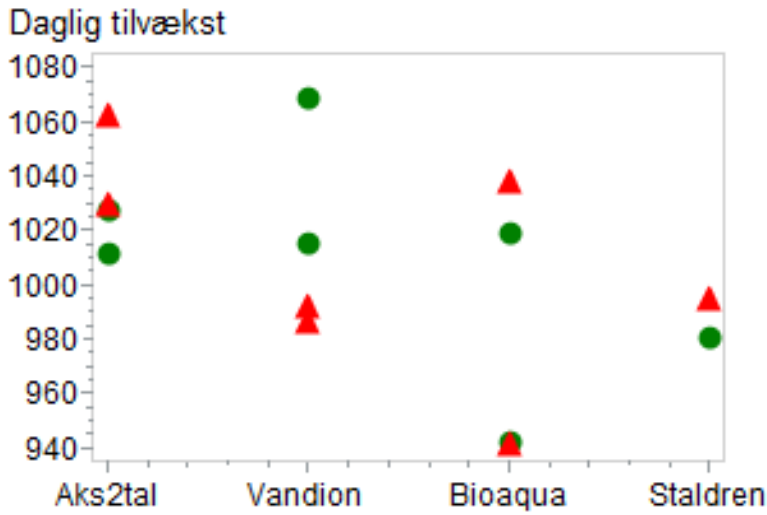
Tabel 3. Dataopgørelse for besætning A opgjort med middelværdier

Gruppe	Kontrol	Aks2tal
Antal hold (runder)	2	2
Producerede svin, stk.	1.000	1.002
Vægt v. indsættelse, kg	33	33
Vægt v. slagtning, kg	83	84
Kødprocent	61,4	61,3
Døde, %	0,9	2,1
Total behandlingsfrekvens, %	14	11
Ledbetændelse, antal grise	32	16
Smertebehandling, antal grise	16	9
Lawsonia, antal grise	95	88
Gruppe	Kontrol	Vandion
Antal hold (runder)	2	2
Producerede svin, stk.	1.006	1.004
Vægt v. indsættelse, kg	33	33
Vægt v. slagtning, kg	84	82
Kødprocent	60,8	61,3
Døde, %	1,5	3,2
Total behandlingsfrekvens, %	8	10
Ledbetændelse, antal grise	36	42
Smertebehandling, antal grise	17	23
Lawsonia, antal grise	26	32
Gruppe	Kontrol	Bioaqua
Antal hold (runder)	2	2
Producerede svin, stk.	1.000	1.001
Vægt v. indsættelse, kg	34	34
Vægt v. slagtning, kg	81	81
Kødprocent	61,3	61,3
Døde, %	2,5	2,7
Total behandlingsfrekvens, %	7	8
Ledbetændelse, antal grise	19	30
Smertebehandling, antal grise	14	22
Lawsonia, antal grise	39	25
Gruppe	Kontrol	Staldren

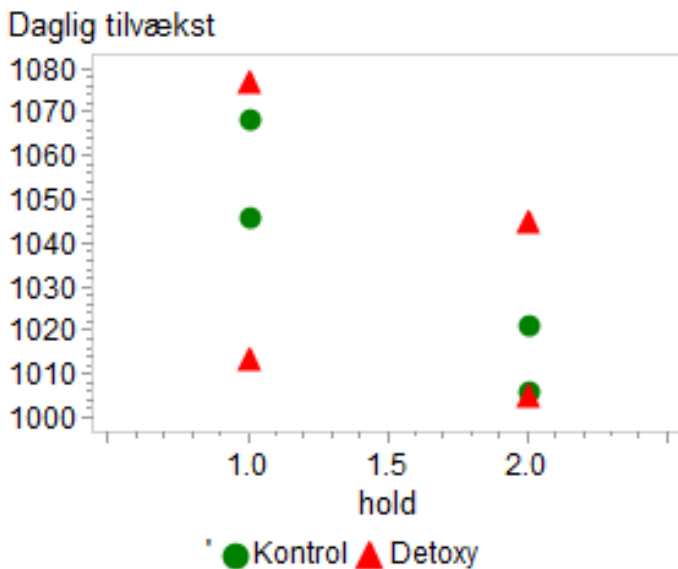
Antal hold (runder)	1	1
Producerede svin, stk.	522	522
Vægt v. indsættelse, kg	35	35
Vægt v. slagting, kg	91	92
Kødprocent	61,1	61,3
Døde, %	0,8	1,7
Total behandlingsfrekvens, %	4	8
Ledbetændelse, antal grise	8	11
Smertebehandling, antal grise	6	10
Lawsonia, antal grise	8	23

Table 4. Dataopgørelse for besætning B opgjort med middelværdier.

Gruppe	Kontrol	Detoxo
Antal hold (runder)/antal stier	2/4	2/4
Producerede svin, stk.	60	60
Vægt v. indsættelse, kg	16,9	16,9
Vægt v. slagting, kg	82,8	82,6
Kødprocent	60,1	60,1
Døde, %	1,7	1,7
Total behandlingsfrekvens, %	12	13
Ledbetændelse, antal grise	1	0
Smertebehandling, antal grise	0	0
Lawsonia, antal grise	3	7
Hjerne-/nervelidelser, antal grise	3	1



Figur 1. Besætning A. Daglig tilvækst. Grøn: kontrol. Rød: forsøg.



Figur 2. Besætning B. Daglig tilvækst. Grøn: kontrol. Rød: forsøg

Statistisk analyse

Den daglige tilvækst blev analyseret, og resultatet viste, at startvægten ikke var signifikant betydende i nogen af besætningerne (hhv. $p=0,25$ og $0,14$) for den daglige tilvækst. Analyseresultatet viste desuden, at Gruppe heller ikke var signifikant i de to besætninger ($p=0,15$ og $p=0,98$), og ej heller ved det efterfølgende Dunnetts test, hvor de fire forsøgsgrupper i besætning A kun blev testet op mod kontrolgruppen (Tabel 5a) og ikke indbyrdes. På baggrund af nærværende data var der således ingen signifikant forskel i tilvækst mellem forsøgsgrupperne og kontrolgrupperne i de to besætninger. Tabel 5b viser middelværdier (LSmeans-værdier), som er udregnet for hver desinfektionsteknologi for sig med tilhørende kontroller.

Table 5a. Daglig tilvækst (g/dag). Dunnett's test. Forsøg testet op mod kontrol.

Differences of gruppe: Least Squares Means Adjustment for Multiple Comparisons: Dunnett-Hsu					
Gruppe	Gruppe	Estimate	Standard Error	t Value	Adj P
Aks2tal	Kontrol	27.5	15.10	1.82	0.40
Vandion	Kontrol	-48.6	15.10	-3.22	0.12
Bioaqua	Kontrol	4.2	15.10	0.28	0.99
Staldren	Kontrol	9.7	21.20	0.46	0.98
Detoxy *	Kontrol	0.5	27.68	0.02	0.99

* Dexoxy er ikke direkte testet i en Dunnett's test, men da der kun blev testet for én desinfektionsteknologi i besætning B, svarer variansanalysen for disse data til en Dunnett's test.

Table 5b. Daglig tilvækst (g/dag). Middelværdier (LSmeans-værdier).

Daglig tilvækst: Least Squares Means				
Gruppe	Estimate	Standard Error	Lower	Upper
<i>Kontrol</i>	<i>1020</i>	<i>13.28</i>	<i>914</i>	<i>1126</i>
<i>Aks2tal</i>	<i>1046</i>	<i>13.28</i>	<i>940</i>	<i>1152</i>
Kontrol	1043	18.86	957	1128
Vandion	989	18.86	904	1074
<i>Kontrol</i>	<i>982</i>	<i>43.51</i>	<i>458</i>	<i>1505</i>
<i>Bioaqua</i>	<i>990</i>	<i>43.51</i>	<i>467</i>	<i>1513</i>
Kontrol	981	-	-	-
Staldren	995	-	-	-
<i>Kontrol</i>	<i>1036</i>	<i>24.91</i>	<i>952</i>	<i>1119</i>
<i>Detoxy</i>	<i>1035</i>	<i>24.91</i>	<i>952</i>	<i>1118</i>

Diskussion

Projektet har været bundet i forhold til tidsramme og bevilling samt tillige i forhold til, hvilke firmaer der havde interesse og mulighed for at indgå i projektet. Det har været en forudsætning for at indgå i projektet, at firmaerne har kunnet fremvise dokumentation for, at deres teknologier har haft en effekt *in vivo* eller *in vitro* i forhold til, hvad der var relevant i projektet. Der skulle således frembringes dokumentation for, at produktet rent faktisk var i stand til at dæmpe støv eller dræbe MRSA-bakterier under laboratorieforsøg. Det var desuden et krav, at teknologierne havde de nødvendige tilladelser til at kunne opstilles og anvendes i svinebesætninger, så grisene uden restriktioner kunne slagtes på sædvanlig vis ved forsøgets afslutning, og således at teknologierne ikke udgjorde nogen risiko for hverken grise eller medarbejdere i besætningerne. Det har også været et krav for deltagelse, at resultaterne af MRSA-målingerne blev indsamlet, bearbejdet af projektmedarbejdere fra DTU, som også drog konklusionerne på projektet. Der har desuden været kontakt til firmaer, som ikke ønskede at deltage under de forudsætninger.

Det var nedslående, at ingen af de afprøvede teknologier kunne påvises at have nogen stor effekt på niveauerne af husdyr-MRSA eller på produktionen. Det skal dog fremhæves, at der har været tale om pilotforsøg, og de opstillede teknologier har været afprøvet til formål og under forhold, de ikke tidligere har været afprøvet under. Det kan således ikke afvises, at der efter justering af metoderne samt en eventuel kombination af metoder kan opnås en effekt.

Projektet viser, hvor vanskeligt det kan være at overføre erfaringer fra laboratorieskala til produktionsforhold. Desinfektionsmidler udviser tillige med både ozon og UV-lys drabseffekt på MRSA og andre mikroorganismer i laboratorieforsøg. I slagtesvinebesætningen (A), der blev anvendt i dette projekt, gik der ca. 500 grise i hver sektion, og hver gris fungerede som en levende inkubator, hvor husdyr-MRSA opformerede sig 24 timer i døgnet. Det bakteriedræbende princip skulle således inaktivere MRSA lige så hurtigt, som de blev produceret af grisene for at have en effekt. Samtidig koloniserer bakterierne væv og overflader, som kan være vanskelige at ramme med f.eks. et desinfektionsmiddel, såsom de indre dele af næsen, bugen, eller tonsillerne i svælget. Derfor kan en kombination af teknologier måske være løsningen, men det har ikke været muligt at undersøge i dette projekt.

Konklusion

Konklusioner for alle forsøg med hensyn til MRSA

Der er i dette projekt afprøvet en række desinfektionsteknologier, som i deres grundprincip har været meget forskellige. Alle teknologier har, under laboratorieforhold, vist effekt overfor MRSA, hvorfor det har været afgørende i dette forsøg at tage dem ud og afprøve dem under de rigtige produktionsforhold. Her viste ingen af teknologierne sig at have nogen sikker stor effekt. En mulig undtagelse er Detoxy, den fotokatalytiske maling, som muligvis har en vis effekt på MRSA i støv og på overflader, hvor det aktive princip netop virker. Det kan være relevant at undersøge denne effekt i et større forsøgs set-up.

Til gengæld har forsøgene udledt mere viden om koloniseringsdynamikken for MRSA hos grise, og hvordan kimtallene hos grisene ændrer sig over tid. Niveauerne af MRSA i næsesvaberprøverne lå generelt omkring 10^3 cfu/prøve (cfu = antal bakterier) ved indsættelse af grisene og aftog hen over forsøgsperioden med ca. en logaritmisk enhed. Gennemsnitligt fandtes de højeste værdier ved første prøvetagning, og de laveste ved tredje prøvetagning, mens værdierne ved anden prøvetagning lå derimellem. Dette var generelt tilfældet for både forsøgs- og kontrolhold, omend der inden for holdene var dyr-til-dyr variation. Dette svarer godt til, hvad vi ved om MRSA-niveauer hos grise, nemlig at de største antal forekommer hos fravænningsgrise og aftager hos slagtesvin.

Luft- og støvprøverne viste en større variation, men det generelle billede var, at niveauerne af MRSA i luftprøver ved anden og tredje prøvetagning lå omkring $10^{1,2}$ - $10^{1,6}$ cfu/m³ og i støv omkring 10^4 cfg/g, dette igen hos både forsøgs- og kontrolhold.

Konklusioner for alle forsøg med hensyn til diarrésmittostoffer og produktivitet

Ingen af de undersøgte desinfektionsteknologier var i denne afprøvning i stand til at forbedre produktiviteten eller sænke behandlingsfrekvensen med antibiotika. Der fandtes heller ingen påvirkning af forekomsten af diarrébakterier.

Referencer

- [1] Voss A, Loeffen F, Bakker J, Klaassen C, Wulf M. (2005). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Pig Farming. Emerg Infect Dis 11:1965–1966; doi:10.3201/eid1112.050428.
- [2] DANMAP. (2016). Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, food and humans in Denmark.

Deltagere

Tekniker: Linda Sandberg Pedersen, Mogens Jacobsen og Henry Kousgaard Aalbæk

Afprøvning nr. 1543

Aktivitetsnr.: NAV1167

//CSK//

Dyregruppe: Slagtesvin

Fagområde: Arbejds miljø, human sundhed

Appendiks 1

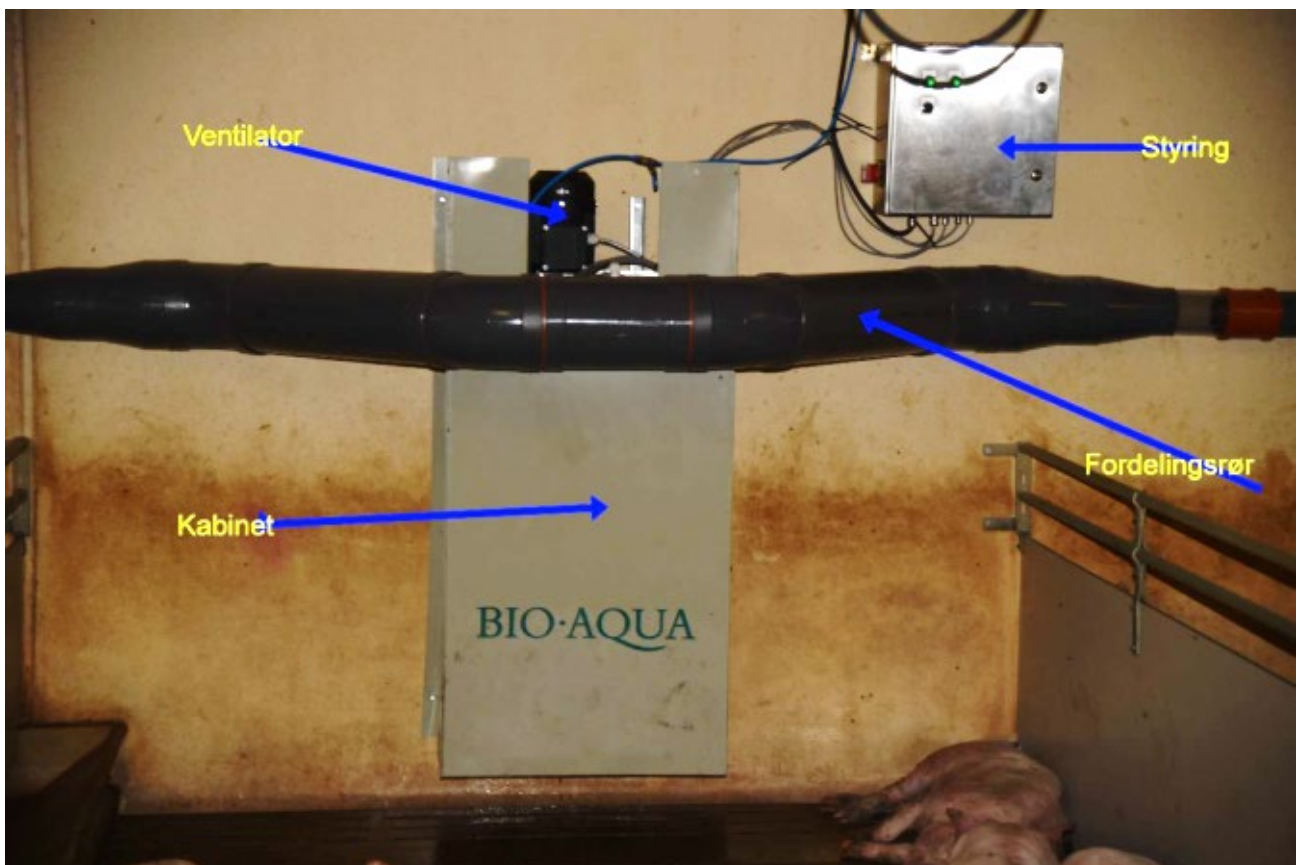
Virkningsprincipper for de fem desinfektionsteknologier

De afprøvede teknologier er kort beskrevet nedenfor. For mere udførlige tekniske beskrivelser og dokumentation henvises til de enkelte firmaer.

Teknologi 1 | UV-belysning og ozon

Denne teknologi, som forhandles af firmaet Bio-Aqua (www.bio-aqua.dk), bygger på, at staldluften suges ind, først gennem en luftrensingsenhed, hvor vand forstøves og binder støvpartikler, der herefter sorteres fra via en cyklon-konstruktion. Den rensede luft ledes forbi en kraftig UV-kilde, som dels inaktiverer bakterier og virus, dels genererer ozon. Herfra ledes luften ud i to fordelingsrør – én på hver væg på staldens langsider – hvorfra den rensede, ozonholdige luft fordeles ud over alle stier (Figur 1).

Teknologien blev afprøvet i to runder i besætning A.





Figur 1. Anlæg fra Bio-Aqua med de forskellige enheders opsætning (øverste billede). Visning af anlæggets placering i staldenheden (nederste billede).

Teknologi 2 | Elektrolyseret vand

Dette er et elektrokemisk syntesystem, Vandion (www.vandion.dk), som bygger på, at der ved udsættelse af en saltopløsning for elektrolyse dannes bioaktive forbindelser ved elektroderne. Der er tale om forskellige forbindelser som blandt andet ozon og hydrogenperoxid, der har kort halveringstid og er biologisk reaktive. I forsøget blev det elektrolyserede vand dagligt sprayet hen over grisene fra en aerosolgenerator (Figur 2), ligesom det blev tilsat drikkevandet.

Teknologien blev afprøvet i to runder i besætning A.



Figur 2. Opstilling af sprayanlægget for Vandion i besætningen.

Teknologi 3 | Støvdæmpning

Et produkt, Aks2tal (www.akstotal.dk), som binder støvpartikler og får dem til at aggregere og falde til jorden, blev forstøvet ud over inventar og grise gennem dyser, installeret under loftet ned gennem hele forsøgssektionen. Behandlingen blev foretaget hver 12. time, klokken 6 og 18 hver dag i den første afprøvningsrunde. Anden afprøvningsrunde blev forstøvningen fordelt hos fem tidspunkter i løbet af dagen. Anlægget blev installeret, drevet under forsøget og afmonteret efter forsøgets afslutning af firmaet (Figur 3). Støvdæmpning blev afprøvet i to runder i besætning A.



Figur 3. Produkttank for Aks2tal med pumpe-tilkobling og styring (billede t.v.) og rørsystem og dyse installation i staldafsnit (billede t.h.).

Teknologi 4 | Staldren

Denne teknologi, Staldren, som forhandles af firmaet Jorenku (www.jorenku.dk), er et princip, hvor produktet (et pulver) dehydrerer de fleste bakterier og andre inficerende patogene organismer. Produktet medvirker til at udtørre stalden. Desuden reducerer det ammoniak og hydrogensulfider samt fører til en bedre luftkvalitet i staldmiljøet. Produktet blev fordelt ud over hele stalddrummet med motordrevet rygsprøjteforstøver til pulver to gange om ugen, 20 kg pr. gang = 40 kg pr. uge (Figur 4).

Teknologien blev afprøvet i besætning A i en enkelt forsøgsrunde.



Figur 4. Nyvasket stald med Staldren forstøvet ud inden indsættelse af grise.

Teknologi 5 | Fotokatalytisk maling

Denne teknologi blev brugt i besætning B. Produktet, Detoxy (www.lifeguards.com), er en fotokatalytisk maling indeholdende titaniumdioxid. Når TiO_2 rammes af UV-lys, dannes der nogle reaktive forbindelser, hydroxyl- og superoxid-anioner, som hurtigt reagerer med stoffer i nærheden og blandt andet inaktiverer bakterier. Malingen påføres alle tilgængelige overflader og er en robust, hvid overfladebehandling (Figur 5).

Denne teknologi blev afprøvet i besætning B i to forsøgsrunder.



Figur 5. Detoxy-maling påført overflader i staldsektion.

Appendiks 2

Prøvetagning og laboratoriemæssige undersøgelser af prøver

Prøvetagning

Næsesvaberprøver fra grise

Næsesvaberprøver blev udtaget med ESwabs (ESwab, Copan Diagnostics Inc., Murrieta, CA, USA). Prøverne blev taget ved at svabre med en roterende bevægelse ca. 1 cm inde i hvert næsebor med en tør svaber. Hver svaber blev roteret fem gange i både højre og venstre næsebor. Efter svabring blev den del af svaberpinden med prøvematerialet knækket af ned i det tilhørende rør med 1 ml sterilt transportmedie. Ved hver prøvetagning blev der taget prøver fra 28 grise fra hvert hold i besætning A og ti grise fra hvert hold i besætning B. Hvert hold blev testet tre gange under forløbet – ved indsætning (baseline = start uge 1), midt i perioden (anden sampling = fjerde uge) og lige før de første grise blev sendt til slagting (tredje sampling = ottende uge).

Luftprøver

Luftprøver blev udtaget ved brug af en Sartorius Airport MD8 sampling devise (Sartorius AG, Göttingen, Tyskland). Der blev udtaget to prøver pr. prøverunde. Prøverne blev udtaget i en højde over gulvet, svarende til, hvor en person af gennemsnitshøjde har sin næse, for bedst at repræsentere eksponeringen for medarbejdere i stalden. Prøverne blev taget over en periode på fem minutter, idet prøvetageren langsomt gik ned gennem midtergangen for at få en repræsentativ prøve fra hele staldsektionen. Luften blev i air samplern filteret gennem et gelatinefilter, hvor alle bakterier afsættes i filteret. Sartorius-maskinen blev afsprøjtet forud for hver prøveudtagning, ligesom filteret blev påsat med en afsprøjtet pincet. Prøver blev udtaget på samme tidspunkt som næsesvaberprøverne.

Støvprøver

Støvprøver blev udtaget ved, at en steril behandlet hånd børstede støv fra oversiden af inventar ned i en lille bøtte. Der blev udtaget to støvprøver pr. gang, så disse repræsenterede forskellige områder af staldsektionen. Prøverne blev udtaget på samme tidspunkt som næsesvaberprøverne. I de fleste tilfælde var det ikke muligt at udtage støv ved første udtagning i starten af uge 1, da grisene lige var indsat i en rengjort stald.

Overfladeprøver (kun for teknologi 5)

Overfladen på to områder på væggene blev på et 10 x 10 cm stort område svabret med en Eswabs, der umiddelbart forinden var fugtet med transportmediet fra det dertilhørende transportrør. Efter svabring blev Eswaben placeret i transportrøret. Placeringen af de to svabrede områder var ens i forsøgs- og kontrolsektionerne.

Transport fra stald til laboratorium

Umiddelbart efter at prøverne blev udtaget, blev de anbragt i en flamingokasse med køleelementer. Kassen blev afsendt om eftermiddagen til laboratoriet med kurertransport og blev modtaget den følgende morgen på laboratoriet. Undersøgelserne blev her igangsat umiddelbart efter modtagelsen.

Laboratoriemæssige undersøgelser (dyrkning og identifikation):

Næsesvaberprøver

MRSA i svaberprøverne blev kvantificeret ved direkte udsæd af 100µl transport medium og af en 10⁻¹ fortynding heraf i fosfat-buffered saltvand på selektive Brilliance MRSA2 agarplader (Oxoid, Basingstoke, UK), efterfulgt af inkubation ved 37 °C i 18-24 timer. Kolonier blev talt og omregnet til

cfu/svaber. I tilfælde af overvækst af MRSA-kolonier blev yderligere en 10-foldsfortynding lavet og udsået.

Prøver, som var negative for MRSA ved direkte udsæd, blev videre undersøgt for kvalitativ påvisning af MRSA ved opformering af resten af transportmediet i Mueller-Hinton Broth med 6,5 % NaCl og inkuberet i 18-24 timer ved 37 °C. Af denne opformering blev 10 µl udstrøget på Brilliance MRSA2 agar og aflæst efter inkubation ved 37 °C i 18-24 timer.

MRSA-suspekterede kolonier blev subkultiveret på blodagar plader og verificeret som *Staphylococcus aureus* ved MALDI-TOF. Verifikation af MRSA blev udført på enkelte kolonier ved detektion af *mecA* genet med PCR.

Luftprøver

Gelatinefiltrene blev umiddelbart efter prøvetagning anbragt med en steril pincet direkte på MRSA2 plader. Efter ankomst til laboratoriet blev pladerne inkuberet ved 37° C i 18-24 timer, hvorefter kolonier blev talt og omregnet til cfu/m³ luft.

Støvprøver

Støvprøver blev undersøgt ved afvejning af 0,5 g støv, som blev opslemmet i 4,5 ml saltvand. Yderligere en 10-foldsfortynding blev lavet i sterilt saltvand, hvorefter 100 µl af hver fortynding blev udsået på Brilliance MRSA2-agarplader og inkuberet ved 37 °C i 18-24 timer. Kolonier blev talt og omregnet til cfu/g støv.

Overfladeprøver (kun for teknologi 5)

Som næsesvaberprøver.

Statistiske beregninger

Tællinger i colony-forming units (CFU) blev log-transformeret, plottet og testet for statistisk signifikans. For prøver, hvor der ikke ved direkte udsæd kunne påvises og tælles kolonier af MRSA, men hvor prøven alligevel efter opformering blev fundet positiv for MRSA, blev kimtallet i de videre beregninger sat til halvdelen af detektionsgrænsen. For negative prøver blev kimtallene sat til 1 cfu, som efter log-transformering ville blive 0. Beregningerne blev udført ved brug af statistik-programmet R, version 3.4.1.

Appendiks 3

MRSA-resultater

(Fra 'Rapport over Interventionsforsøg overfor husdyr-MRSA i svinebesætninger, 2017-2018')

Forklaring vedr. terminologien i figurene:

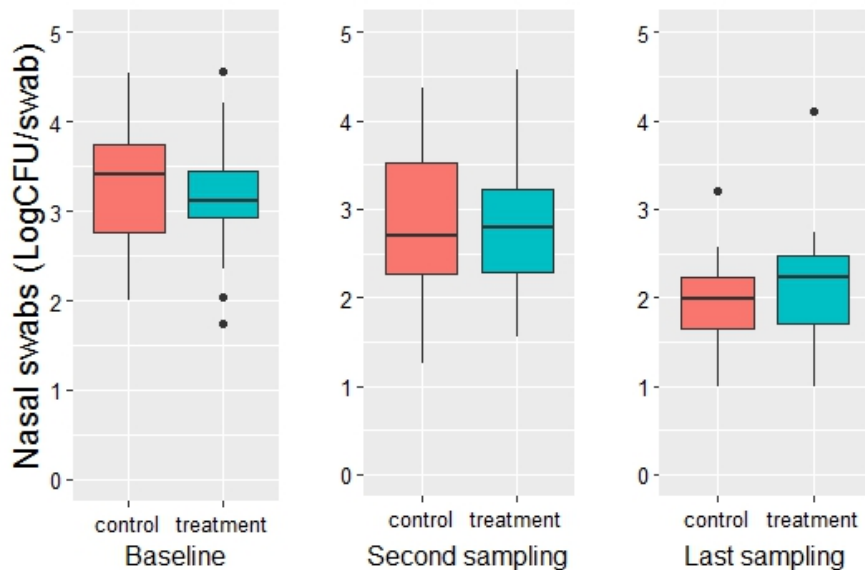
- CFU = colony forming unit (svarer til antal bakterier)
- Prøveudtagningstidspunkter:
 - Baseline = ved indsættelse af grisene i stalden
 - Second sampling = prøveudtagning efter fire uger
 - Last sampling (third) = prøveudtagning efter otte uger
- Forsøgsgrupper:
 - Control = kontrolgruppe
 - Treatment = forsøgsgruppe

Teknologi 1 | BioAqua

BioAqua blev testet i to afprøvningsrunder i besætning A.

Første forsøgsrunde

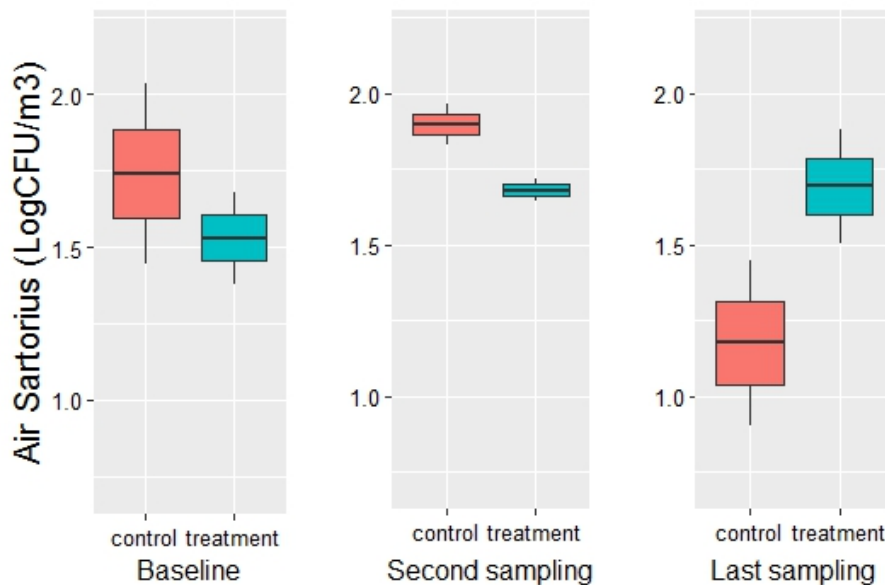
MRSA-niveauer fra næsesvaberprøver fra hver af de tre prøveindsamlingsdage, henholdsvis kontrol og behandlingsgruppe fremgår af Figur 1.



Figur 1. MRSA-værdier fra 24 næsesvaberprøver (LogCFU/svaber) ved de tre prøvetagningstidspunkter fra kontrol- og treatment-gruppe i forbindelse med BioAqua i første afprøvningsrunde.

Mængderne af MRSA var sammenlignelige mellem grupperne over hele prøveperioden. Der var en generel reduktion af MRSA-niveauerne over forsøgsperioden i begge grupper. Kontrolgruppens værdier lå lidt højere ved start af forsøget, hvorimod treatment-gruppen lå med lidt højere CFU kimtal ved sidste prøvetagning. Der var ingen teknologi-relateret effekt på de faldende MRSA-niveauer.

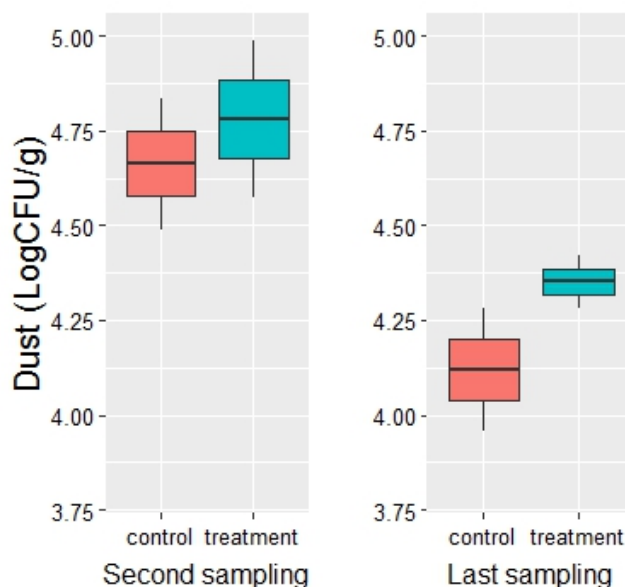
Luftprøverne blev ligeledes indsamlet i de to grupper på de nævnte prøvetagningsdage (Figur 2).



Figur 2. MRSA-værdier fra to luftmålinger taget med Sartorius luftmåler, LogCFU/m³, ved de tre prøvetagningstidspunkter fra kontrol- og treatment-gruppe i den første afprøvningsrunde med BioAqua.

MRSA-niveauerne ved de to første indsamlinger var generelt højere for kontrolgruppen. Ved afslutningen af forsøgsperioden lå MRSA-niveauet for treatment-gruppen derimod højere end kontrolgruppens. Treatment-gruppen gav MRSA-værdier, der lå relativt konstante over forsøgsperioden, hvorimod kontrolgruppens niveauer lå lavere ved den sidste måling. Samlet set var der ikke nogen forskel på kontrol- og behandlingsgruppen, og der kan således ikke påvises nogen effekt af teknologien overfor MRSA.

Støvrøverne kunne ikke indsamles ved indsætningstidspunktet for grisene, hvilket var generelt ved stort set alle afprøvninger. Som beskrevet i afsnittet om materialer og metoder blev der vasket med højtryksrensere før indsættelse af smågrisene. Dette forklarer den manglende mængde støv ved første prøvetagning. MRSA-værdierne for støvrøverne ved afprøvning BioAqua teknologien fremgår af Figur 3.



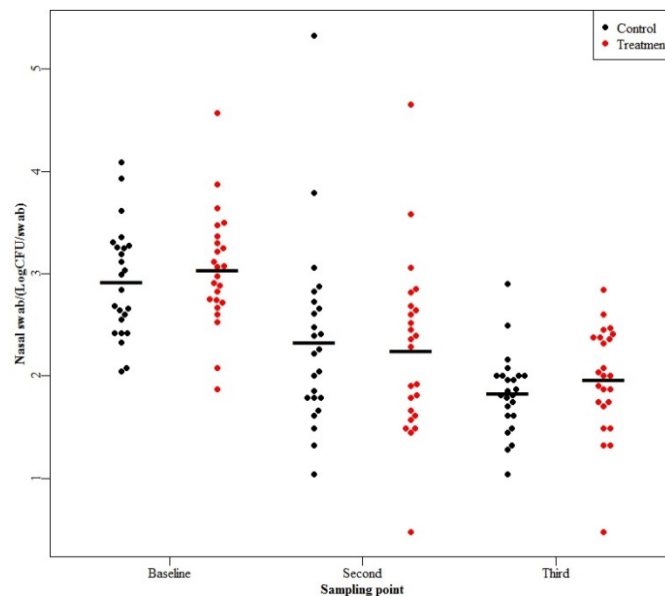
Figur 3. MRSA-værdier i støvrøver, LogCFU/g, ved de tre prøvetagningstidspunkter fra kontrol- og treatment-gruppe i den første afprøvningsrunde med BioAqua.

MRSA-niveauerne var højere for treatment-gruppen ved begge indsamlingstidspunkter. Begge grupper havde lavere MRSA-niveauer på tidspunktet for grisenes afgang til slagtning (sidste sampling), hvilket er i overensstemmelse med resultaterne for næsesvaberprøverne. Kimtallene for MRSA i støvet lå generelt i intervallet 10^4 - 10^5 cfu/g (Figur 3).

Anden forsøgsrunde

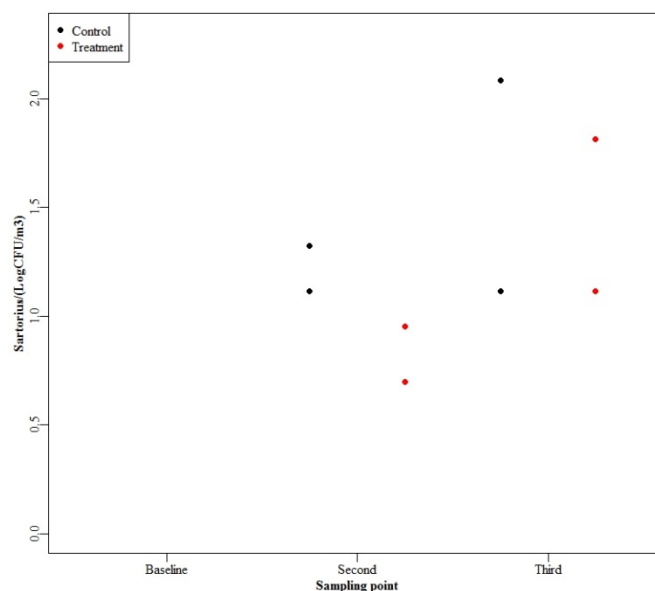
Næsten alle grise blev fundet MRSA-positive ved alle prøvetagningstidspunkter. Kun to prøver – taget fra to grise i behandlingsgruppen, en ved anden og en ved tredje prøvetagning – blev underkastet opformering for at fastslå MRSA-status. I øvrige prøver kunne MRSA påvises ved den direkte udpladning.

Kimtallene for MRSA (LogCFU) i næsesvaberprøver ved hver prøvetagning er vist i Figur 4. Hen over forsøgsperioden faldt niveauerne af MRSA i begge grupper, men der var ingen forskel mellem grupperne ($p=0,58$). Som det fremgår, var der stor variation mellem niveauerne hos grisene, selv inden for samme gruppe og prøvetagningstidspunkt.



Figur 4. MRSA-værdier fra 24 næsesvaberprøver (LogCFU/svaber) ved de tre prøvetagningstidspunkter fra kontrol- og treatment-gruppe i anden afprøvningsrunde med BioAqua.

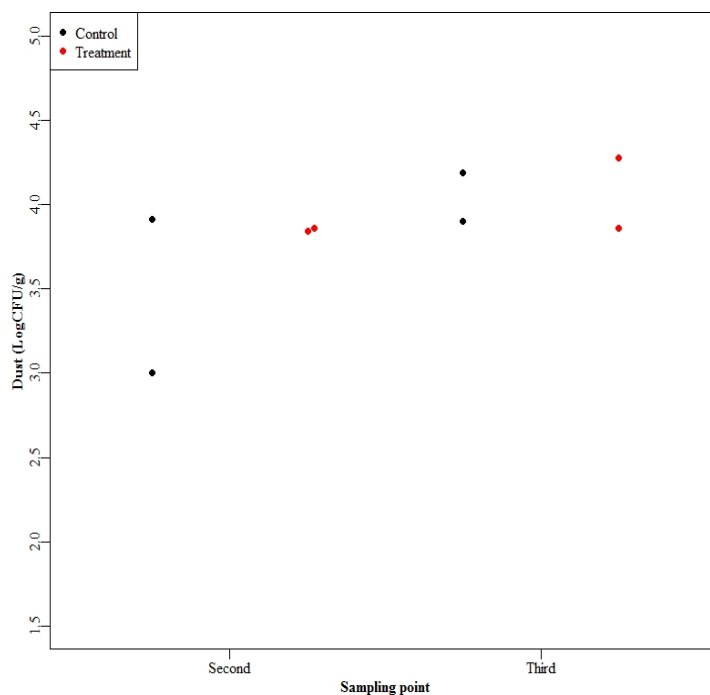
I luftprøverne kunne der heller ikke påvises nogen forskel mellem kontrol- og behandlingsgruppen (Figur 5).



Figur 5. MRSA-værdier i to luftprøver, LogCFU/m³, fra de tre prøvetagningstidspunkter fra kontrol- og treatment-gruppe i den anden afprøvningsrunde med BioAqua.

Ved baseline-målingerne lå MRSA-kimtallene i luften under detektionsgrænsen, 4 cfu/m³, i begge grupper. Ved anden prøvetagning blev der fundet marginalt flere MRSA i kontrolgruppen, mens der ved tredje prøvetagning var større variation men ingen forskel mellem grupperne. Værdierne var højere ved tredje end ved anden prøvetagning, modsat tilfældet for næsesvabrene.

Støvprøver kunne kun indsamles ved de sidste to prøvetagninger, idet der ved den første prøvetagning ikke fandtes støv. Resultaterne fremgår af Figur 6. Der forekom en svag stigning i MRSA-kimtallene fra anden til tredje prøvetagning – ligesom i luftprøverne men modsat næsesvaberprøverne. Ved begge målinger lå kimtallene relativt højt, omkring 10⁴ CFU/g støv.



Figur 6. MRSA-værdier i to støvprøver (LogCFU/g) ved de to prøvetagningstidspunkter fra kontrol- og treatment-gruppe i den anden prøverunde med BioAqua.

Konklusioner for begge forsøgsrunder, BioAqua

Fundene var overordnet set ens i de to forsøgsrunder, og der kunne ikke påvises nogen effekt af behandlingen overfor MRSA.

Der fandtes stor variation i MRSA-niveauerne i næsesvaberprøverne, og der skete et generelt fald i cfu/svaber hen over forsøgsperioden, ca. en logaritmisk enhed. Dette afspejler, hvad der tidligere er konkluderet, nemlig at MRSA ses i størst antal hos fravænningsgrise og i noget lavere antal hos slagtesvin.

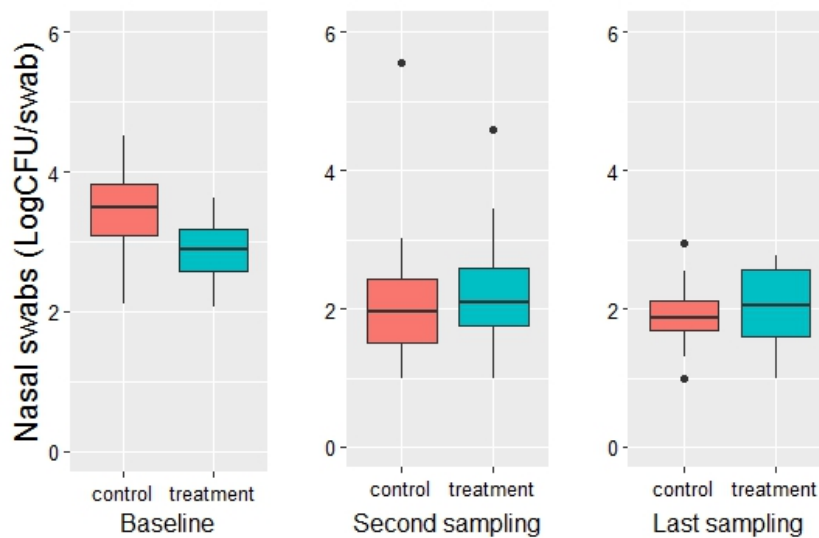
Et tilsvarende fald i MRSA-kimtal kunne derimod ikke påvises i hverken luft- eller støvprøver, hvor der tværtimod skete en vis stigning over tid. Derved ophobedes MRSA over tid i miljøet, til trods for at antallet af MRSA i næsen på grisene faldt.

Teknologi 2 | Vandion

Denne teknologi blev afprøvet over to forsøgsrunder. Der blev ikke lavet ændringer i opsættet mellem de to runder.

Første forsøgsrunde

Figur 7 illustrerer MRSA-niveauerne for afprøvningsrunde 1, identificeret fra næsesvaberne ved de tre prøveindsamlingspunkter.

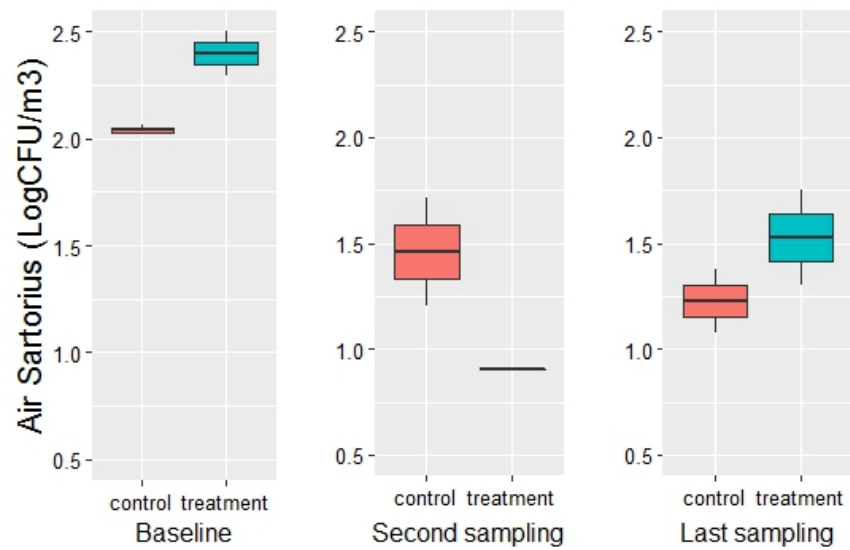


Figur 7. MRSA-værdier i 24 næsesvabere (LogCFU/svaber) ved de tre prøvetagningstidspunkter fra kontrol- og treatment-gruppe i den første forsøgsrunde med Vandion.

Ved første prøveindsamling, før påbegyndelse af behandling, lå MRSA-niveauerne i næsesvaberprøverne lidt højere for kontrolgruppen. Ved anden og tredje prøvetagning var MRSA-niveauerne ens i de to grupper og lå på et lavere niveau end ved første prøvetagning, generelt ca. en logaritmisk enhed lavere (Figur 7).

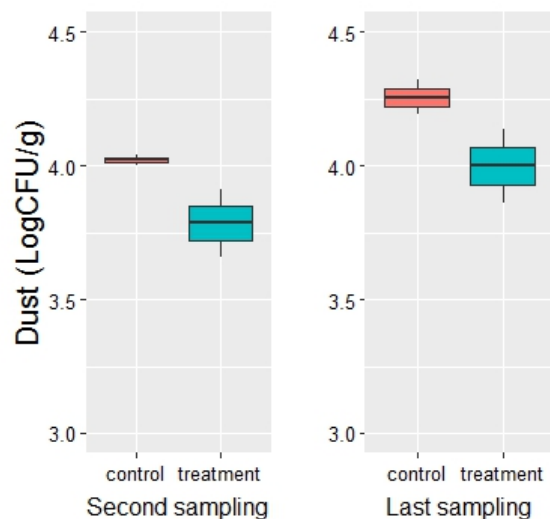
Luftmålingerne med airsampleren blev udført, efter at grise var blevet indsat, idet halvdelen af grisene på dette tidspunkt allerede var indsat to uger inden første prøveindsamling. Derfor sås der relativt høje niveauer af MRSA i luftprøverne. Resultaterne viste derefter et fald i MRSA-niveauerne hen over forsøgsperioden. Kontrolgruppen udviste støt faldende niveauer over hele forsøgsperioden. For treatment-gruppen var det muligt at observere et markant fald fra første til anden prøvetagning, men

ved tredje måling var det steget igen (Figur 8). Overordnet set kunne der ikke påvises nogen forskel mellem forsøgs- og kontrolgruppen.



Figur 8. MRSA-værdier fra to luftmålinger (LogCFU/m³) ved de tre prøvetagningstidspunkter fra kontrol- og treatment-gruppe i forbindelse med Vandion første afprøvningsrunde.

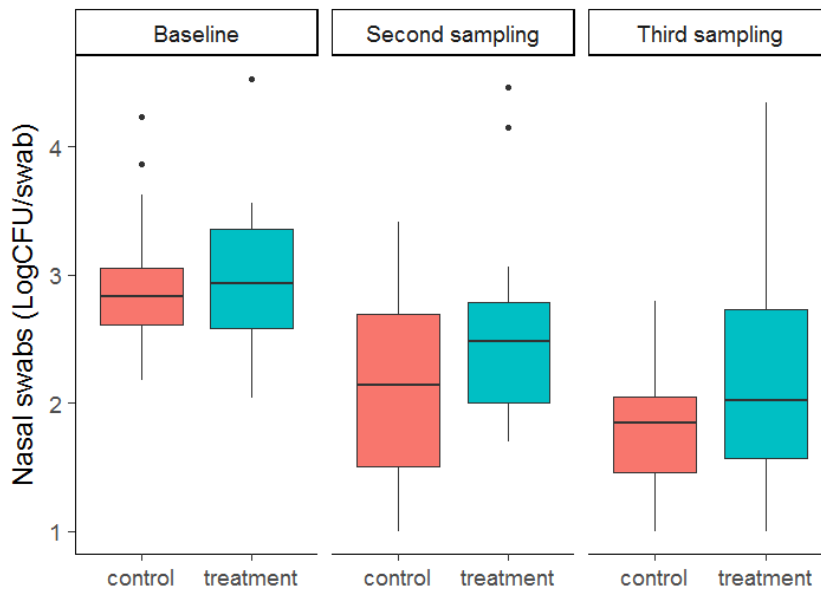
Støvrørerne blev indsamlet ved to af de tre prøveindsamlingsdage under første afprøvningsrunde. Resultaterne fremgår af Figur 9. Det ses, at der forekom en stigning i cfu/g støv fra anden til tredje prøveindsamling, hvilket er i overensstemmelse med den tilsvarende stigning, som sås i luftprøverne (Figur 8). Den forholdsmæssige stigning i MRSA-niveauerne var den samme i de to grupper og kan således ikke tilskrives en effekt af behandling.



Figur 9. MRSA-værdier i to støvrør (LogCFU/g) ved de to sidste prøvetagningstidspunkter for kontrol- og treatment-gruppe i den første forsøgsrunde med Vandion.

Anden forsøgsrunde

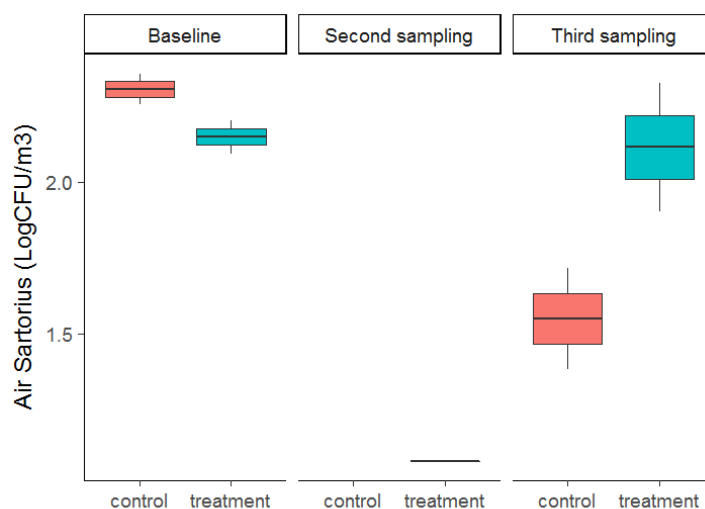
Resultaterne for næsesvaberne i anden afprøvningsrunde var meget lig første runde (Figur 10). Her lå niveauerne i treatment-gruppen konsekvent marginalt højere end i kontrolgruppen over hele forsøgsperioden. Som i første forsøgsrunde faldt niveauerne i næsesvaberprøverne hen over forsøgsperioden – ca. en logaritmisk enhed (Figur 10). Reduktionen var den samme i forsøgs- og kontrolgruppen og kan således ikke tilskrives en konsekvens af behandling.



Figur 10. MRSA-værdier fra 24 næsesvabere (LogCFU/svaber) ved de tre prøvetagningstidspunkter fra kontrol- og treatment-gruppe i den første forsøgsrunde med Vandion.

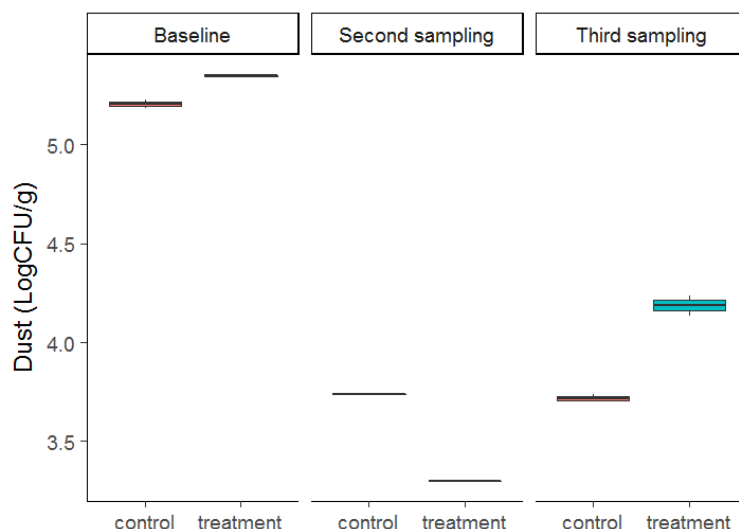
Resultaterne af luftmålingerne er vist i Figur 11. Ved første prøvetagning var halvdelen af grisene allerede indsat to uger forinden, hvilket er årsagen til MRSA-påvisningen allerede ved første prøvetagning i luften.

I kontrolgruppen sås et fald i MRSA-niveauerne fra første til tredje prøvetagning, hvorimod der i forsøgsgruppen sås samme niveauer ved start og slut. Under disse prøveindsamlinger kørte sprayfunktionen ikke i en periode inden anden prøvetagning. Niveauerne lå i begge grupper meget lavt ved anden prøvetagning, og der er umiddelbart ikke nogen forklaring på dette (Figur 11). Dynamikken var dog i visse henseender som i første forsøgsrunde, at der fra et initialt højt niveau først forekom et fald og derefter igen en stigning ved tredje prøvetagning.



Figur 11. MRSA-værdier fra to luftmålinger (LogCFU/m³) ved de tre prøvetagningstidspunkter fra kontrol- og treatment-gruppe i anden forsøgsrunde med Vandion.

Det var muligt at indsamle støvprøver allerede ved første prøvetagning, idet halvdelen af grisene på dette tidspunkt allerede var indsat to uger forinden. Resultaterne afspejlede i høj grad resultaterne for luftprøverne. I begge grupper skete der fra et initialt højt niveau ved første prøvetagning et markant fald til anden prøvetagning, men hvor kontrolgruppen forblev på det lavere niveau ved tredje prøvetagning, steg niveauet i treatment-gruppen igen fra anden til tredje prøvetagning (Figur 12). Henover forsøgsperioden var der således et større fald i MRSA-niveauer i kontrolgruppen end i forsøgsgruppen.



Figur 12. MRSA-værdier i to støvprøver (LogCFU/g) ved de tre prøvetagningstidspunkter for kontrol- og treatment-gruppe i anden forsøgsrunde med Vandion.

Konklusioner for begge forsøgsrunder | Vandion

Niveauerne af MRSA i næsesvaberne faldt hen over forsøgsperioden med ca. en faktor 10 i begge grupper, og der var samlet set ingen forskel mellem forsøgs- og kontrolgrupperne.

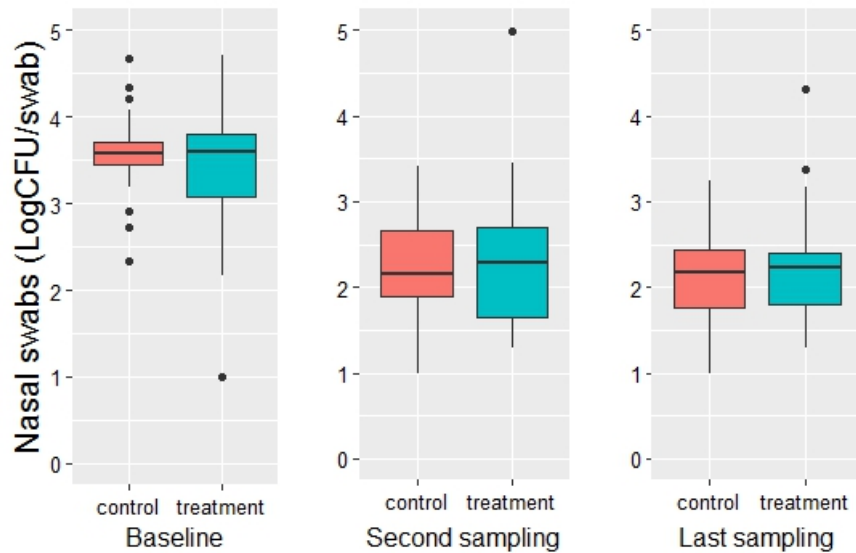
I både luft- og støvprøver forekom der en reduktion fra første til anden prøvetagning men igen en stigning ved tredje prøvetagning. Der sås ikke lavere niveauer eller større reduktion i treatment-gruppen i forhold til kontrolgruppen, og der kunne således ikke påvises nogen effekt af behandlingen på MRSA.

Teknologi 3 | Aks2tal

Det støvbindende produkt blev afprøvet i besætning A i to runder.

Første forsøgsrunde

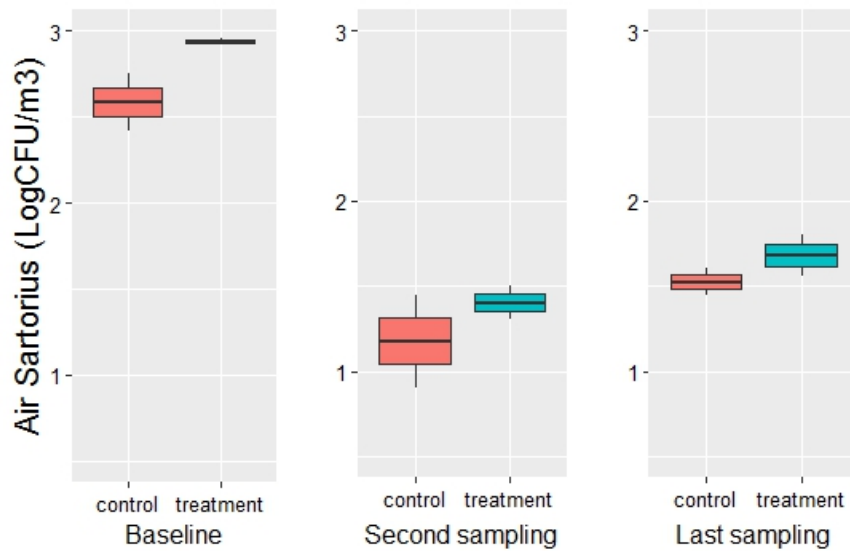
Resultaterne fra næsesvaberne for første afprøvningsrunde af Aks2tal er vist i Figur 13. Som det fremgår, skete der et fald i MRSA-niveauerne i næsesvaberne fra første til anden prøvetagning, som holdt sig stabile til tredje prøvetagning. Faldet, som var på ca. en logaritmisk enhed, var ligesom niveauerne ens i kontrol og forsøgsgruppen.



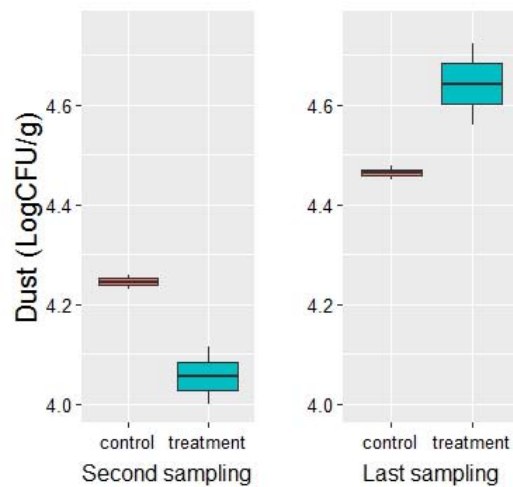
Figur 13. MRSA-værdier fra 24 næsesvabere (LogCFU/svaber) ved de tre prøvetagningstidspunkter fra kontrol- og treatment-gruppe i første forsøgsrunde med Aks2tal.

I luftprøverne sås der ligeledes et markant fald fra første til anden prøvetagning men derefter en svag stigning til tredje måling (Figur 14). Dette kan være udtryk for en opbygning af smitte i miljøet over tid, hvilket ligeledes afspejledes i kimtallene i støvprøverne (Figur 15), hvor en tilsvarende stigning fra anden til tredje måling fremgik.

Der fandtes ikke signifikante forskelle mellem kontrol- og behandlingsgruppen for hverken næse-, luft- eller støvprøver.



Figur 14. MRSA-værdier fra to luftmålinger (LogCFU/m³) ved de tre prøvetagningstidspunkter fra kontrol- og treatment-gruppe i første forsøgsrunde med Aks2tal.

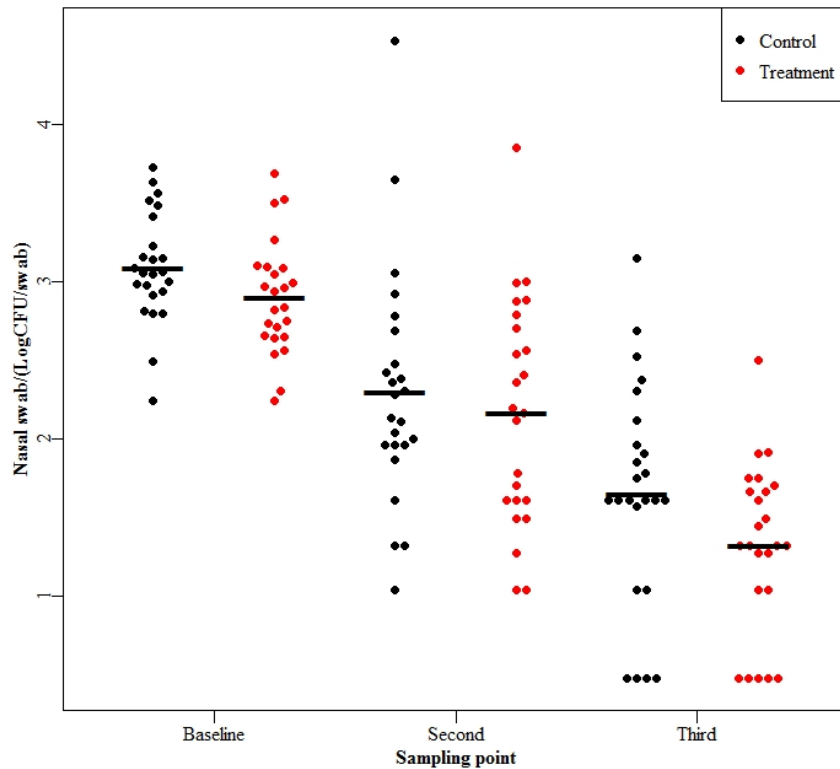


Figur 15. MRSA-værdier i to støvprøver (LogCFU/g) ved de to sidste prøvetagningstidspunkter for kontrol- og treatment-gruppe i forbindelse første forsøgsrunde med Aks2tal.

Anden forsøgsrunde

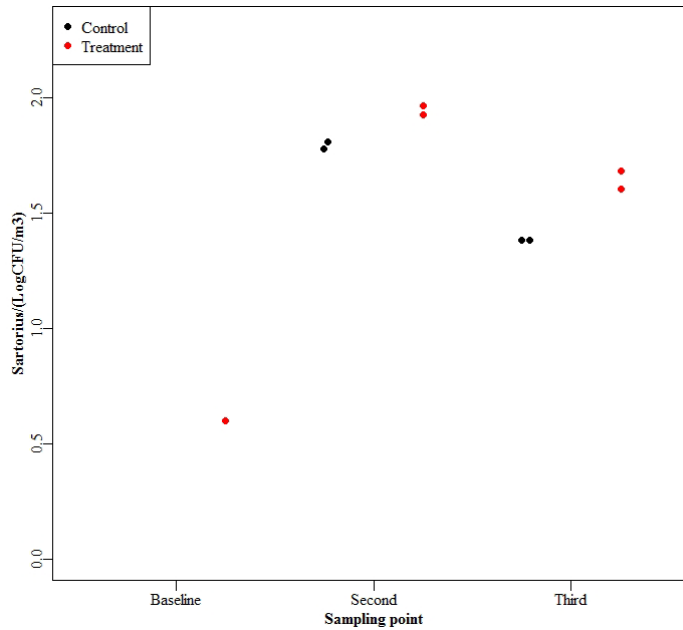
Ligesom i første forsøgsrunde skete der et fald i MRSA-niveauerne i næsesvabrene over tid, ca. en logaritmsk enhed fra første til tredje prøvetagning. Faldet forekom ens i de to grupper (Figur 16), og der kunne ikke påvises nogen effekt af det støvbindende middel på MRSA-niveauerne i næsesvaberne.

Antallet af forstøvninger blev øget fra to gange dagligt (første forsøgsrunde) til fem gange dagligt (anden forsøgsrunde) som beskrevet i Appendiks 1.



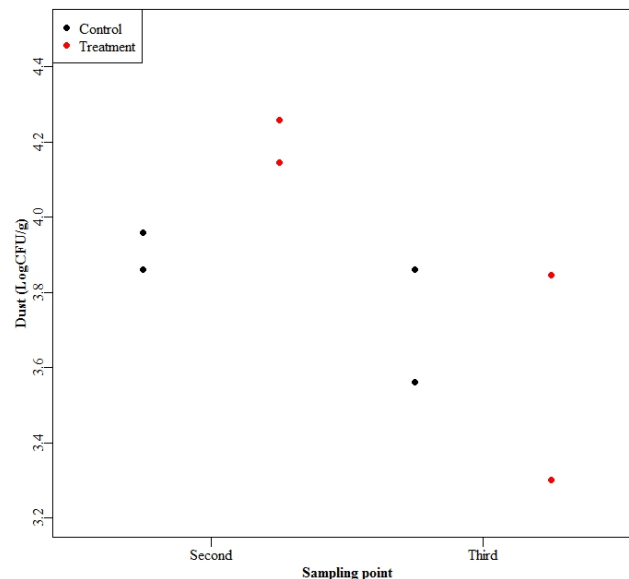
Figur 16. MRSA-værdier fra 24 næsesvabere (LogCFU/svaber) ved de tre prøvetagningstidspunkter fra kontrol- og treatment-gruppe i anden forsøgsrunde med Aks2tal.

Resultaterne for luftprøverne er vist i Figur 17. Ved første prøvetagning, hvor grisene var nyindsatte, var niveauerne i alle tilfælde meget lave, og kun én enkelt prøve nåede over detektionsgrænsen på 4 cfu/m³ luft. Ved anden og tredje måling fandtes nogenlunde samme koncentrationer af MRSA, omkring 1,5-2,0 logaritmiske enheder pr. m³. Der fandtes ikke lavere værdier i forsøgsgruppen end i kontrolgruppen, og der kunne således ikke påvises nogen effekt af behandlingen.



Figur 17. MRSA-værdier fra to luftmålinger (LogCFU/m³) ved de tre prøvetagningstidspunkter fra kontrol- og treatment-gruppe i anden forsøgsrunde med Aks2tal.

Ved første prøvetagning var stalden nyrengjort, og der var således ikke noget støv til stede. Fra anden til tredje prøvetagning skete der i såvel kontrol som behandlingsgruppen et fald i antal MRSA pr. gram støv, men samlet for begge prøvetagninger var der ikke forskel på de to grupper (Figur 18).



Figur 18. MRSA-værdier i to støvprøver (LogCFU/g) ved de to sidste prøvetagningstidspunkter for kontrol- og treatment-gruppe i anden forsøgsrunde med Aks2tal.

Konklusioner for begge forsøgsrunder | Aks2tal

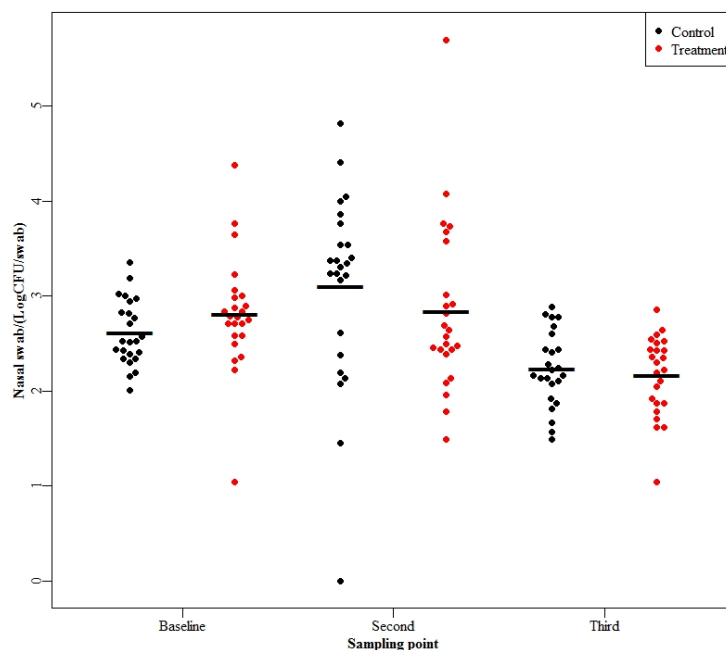
I begge forsøgsrunder blev der observeret en reduktion i kimtallene i næseprøverne henover forsøgsperioden på ca. en logaritmsk enhed. Faldet var ens i kontrol- og forsøgsgrupperne. I luft- og støvmålingerne blev der i første forsøgsrunde observeret en mindre stigning i niveauerne mellem anden og tredje prøvetagning, mens der i anden forsøgsrunde blev observeret et mindre fald. Behandlingen bevirkede, at mængden af støv i luften blev reduceret, og overflader efterhånden fik et

tyndt, fedtet lag. Det var derfor forventet, at der ville være færre MRSA i luften og eventuelt en større deponering af MRSA i støvprøverne i treatment-gruppen. Dette kunne imidlertid ikke eftervises eksperimentelt. Selvom frekvensen af behandlinger med produktet blev forøget fra første til anden afprøvningsrunde, ændrede dette billede sig ikke. Samlet set kunne der ikke påvises nogen effekt af behandlingen på niveauerne af MRSA i nogen af prøvetyperne.

Teknologi 4 | Staldren

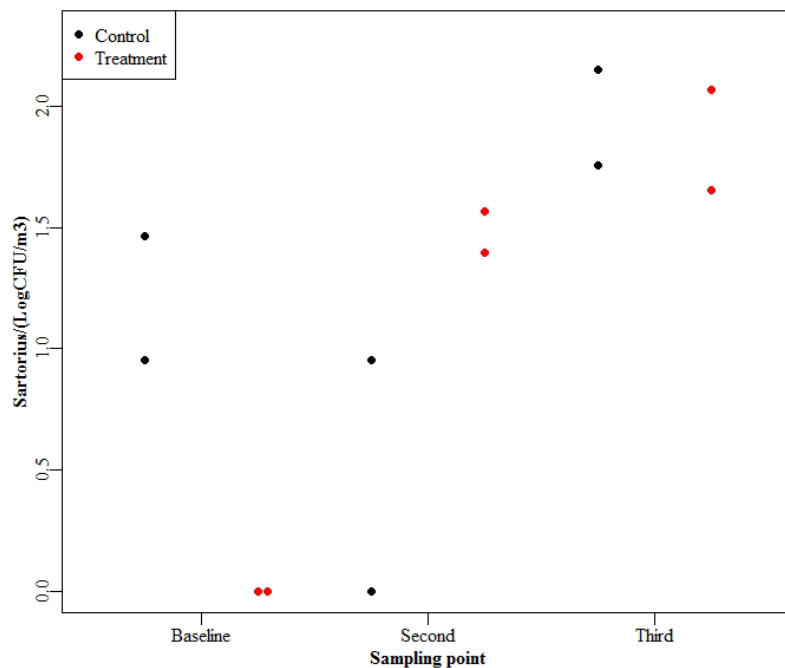
Produktet Staldren fra firmaet Jorenku blev testet i kun én afprøvningsrunde i besætning A.

MRSA-værdier i næsesvaberprøver (LogCFU/svaber) fra hvert prøvetagningstidspunkt fremgår af Figur 19. Fra første til anden prøvetagning sås en marginal stigning, mens der ved tredje prøvetagning sås et fald. Billedet var parallelt for forsøgs- og kontrolgruppen, og samlet set kunne der ikke påvises nogen signifikante forskelle mellem grupperne.



Figur 19. MRSA-værdier fra 24 næsesvabere (LogCFU/svaber) ved de tre prøvetagningstidspunkter fra kontrol- og treatment-gruppe i forsøgsrunde med Staldren.

Resultaterne for luftprøverne er vist i Figur 20. Ved den første prøvetagning blev der kun påvist MRSA i prøver fra kontrolgruppen men i lave niveauer omkring 10 cfu/m³. Ved anden prøvetagning sås højere værdier niveauer i forsøgsgruppen om end stadig lave antal, og i kontrolgruppen var kun en enkelt måling over detektionsgrænsen på 4 cfu/m³. For begge grupper sås niveauer omkring 100 cfu/m³ ved tredje prøvetagning.



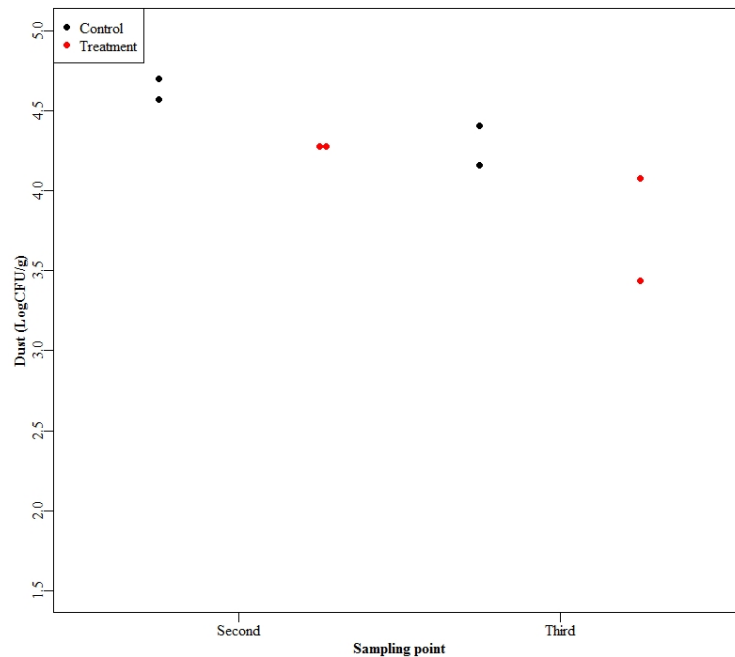
Figur 20. MRSA-værdier fra to luftmålinger (LogCFU/m³) ved de tre prøvetagningstidspunkter fra kontrol- og treatment-gruppe i forsøgsrunde med Staldren.

Data for støvprøverne for to prøveindsamlingsstidspunkter er vist i Figur 21. Der var intet støv til stede ved første prøveindsamlingsrunde.

MRSA-niveauet lå konsekvent lidt højere – ca. en halv logaritmisk enhed – for kontrolgruppen over forsøgsperioden. Både kontrol- og behandlingsgruppens MRSA-niveau blev reduceret fra anden til tredje prøvetagning. Reduktionen var mere udtalt for treatment-gruppen, dog med nogen spredning mellem værdierne.

Samlet konklusion | Staldren

I næsesvaberprøverne sås et fald i MRSA-tallene hen over prøvetagningsperioden, med en reduktion på ca. en logaritmisk enhed fra højeste til laveste niveauer. Dette er i lighed med resultaterne fra andre forsøgsserier, og der var ikke nogen forskel på behandlings- og kontrolgruppen. Niveauerne af MRSA lå generelt lidt højere i kontrolgruppen i støvprøverne, men samlet set for luft og støvprøver kunne der ikke påvises nogen forskel. Der kunne således samlet set ikke påvises klare indikationer på en effekt af Staldren på MRSA-niveauerne i stalden.



Figur 21. MRSA-værdier i to støvprøver (LogCFU/g) ved de to sidste prøvetagningstidspunkter for kontrol- og treatment-gruppe i forsøgsrunden med Staldren.

Teknologi 5 | Detoxy

Denne teknologi blev afprøvet i to runder. Imidlertid var MRSA-niveauerne i den første forsøgsrunde generelt meget lave, og imellem første og anden forsøgsrunde blev der derfor skiftet til en griseleverandør med et højere indgangsniveau. Ved afprøvningen af denne teknologi blev der taget endnu en type prøver. Da effektivitet på den maledede overflade var af afgørende betydning for effektivitetsvurderingen, blev overfladeprøver også indsamlet.

Første forsøgsrunde

Der blev taget næsesvaberprøver fra ti grise (besætning B) i hver gruppe ved hver prøvetagning. På grund af meget lave MRSA-niveauer kunne der i størstedelen af prøverne ikke påvises MRSA ved direkte udsæd, så mange blev underkastet opformering, og selv her viste mange sig at være negative.

Der var imidlertid flest positive prøver i kontrolgruppen, idet der ved første, anden og tredje prøvetagning blev fundet henholdsvis syv, seks og fire positive ved direkte udsæd og tre, fire og fem efter opformering, mens det i forsøgsgruppen var nul, tre og to, henholdsvis tre, seks og seks. Dette blev ligeledes afspejlet i luftprøverne, hvor begge prøver i forsøgsgruppen ved både anden og tredje prøvetagning var positive, omend med lave kimtal, mens kun en enkelt i forsøgsgruppen ved tredje prøvetagning var positiv. Støvprøverne taget ved anden prøvetagning havde markant flere MRSA i støv fra kontrolholdet, mens der ved tredje prøvetagning ikke var nogen forskel mellem grupperne.

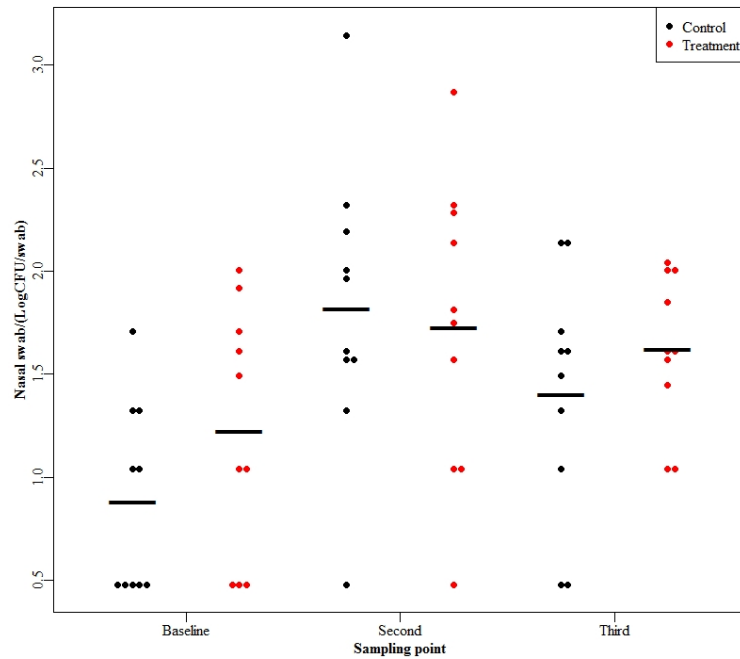
Alle seks overfladesvaberprøver fra inventar i forsøgsgruppen var negative, mens fire prøver i kontrolgruppen var positive, de tre af dem dog kun efter opformering.

Resultaterne tydede således på, at der var en effekt af behandlingen, men de meget lave niveauer betød, at det ikke var meningsfuldt at foretage statistiske beregninger.

Anden forsøgsrunde

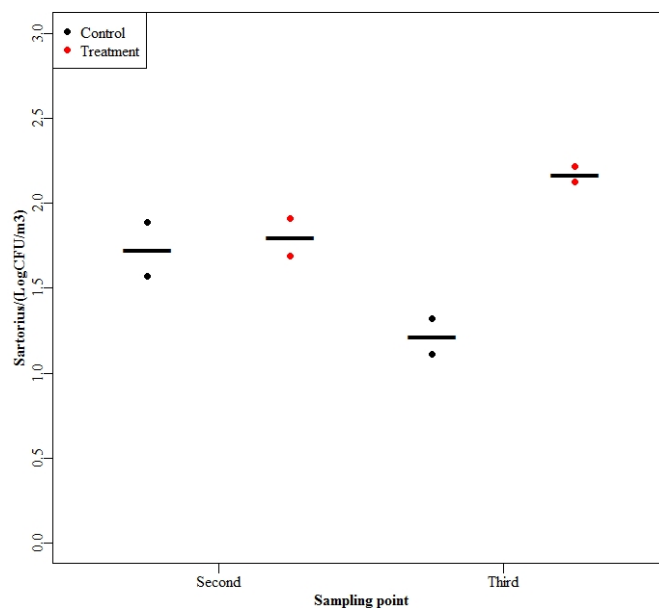
Også i anden runde viste en del af næsesvaberprøverne sig negative ved direkte udsæd og flere også efter opformering. Resultaterne illustreres i Figur 22.

Som det fremgår, havde de to grupper sammenlignelige MRSA-niveauer ved alle tre prøvetagninger. Efter en initial stigning fra første til anden prøvning faldt niveauerne igen ved tredje prøvedtagning i begge grupper.



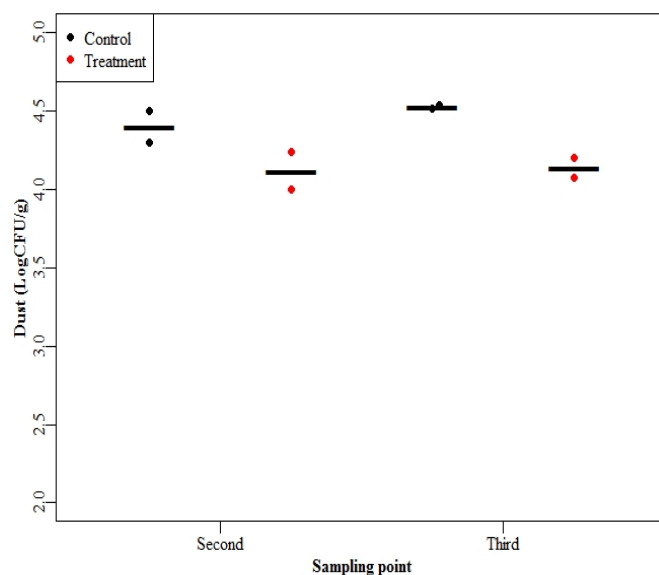
Figur 22. MRSA-værdier fra ti næsesvabere (LogCFU/svaber) ved de tre prøvetagningstidspunkter fra kontrol- og treatment-gruppe i anden forsøgsrunde med Detoxy.

Ingen af Sartorius-luftprøverne kom over detektionsgrænsen på 4 CFU/m³ ved første prøveindsamling. De to efterfølgende indsamlinger fremgår af Figur 23. MRSA-niveauerne var meget ens ved anden prøveindsamling, men ved tredje prøveindsamling observeredes der en markant forskel mellem de to grupper. Treatment-gruppen havde omkring en logaritmisk enhed højere værdier end kontrolgruppen.



Figur 23. MRSA-værdier fra to luftmålinger (LogCFU/m³) ved de tre prøvetagningstidspunkter fra kontrol- og treatment-gruppe i anden forsøgsrunde med Detoxy.

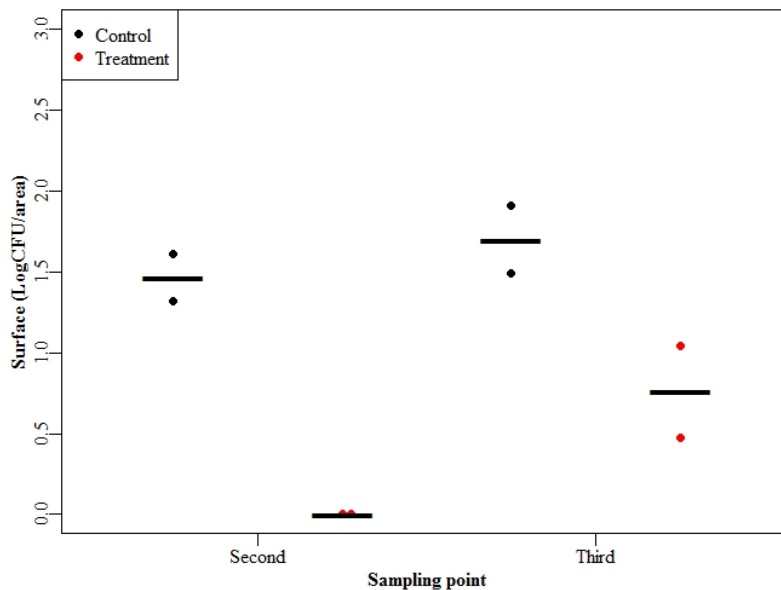
Støvprøver blev samlet ind ved de to sidste indsamlingsdage, og her fandt man høje MRSA-kimtal i begge grupper. Prøverne for de to indsamlingsdage gav høje MRSA-niveauer for begge grupper. Ved begge indsamlinger gav prøverne for kontrolgruppen anledning til højere CFU i forhold til treatment-gruppen, og disse niveauer forblev relativt konstante (Figur 24).



Figur 24. MRSA-værdier i to støvprøver (LogCFU/g) ved de to sidste prøvetagningstidspunkter for kontrol- og treatment-gruppe i anden forsøgsrunde med Detoxy.

Ved første prøveindsamling af overflader var det ikke muligt at detektere MRSA i hverken treatment- eller kontrol-gruppen ved direkte dyrkning. Det negative resultat for den direkte dyrkning blev verificeret ved dyrkning med opformering. Resultater fra overflader ved anden prøvetagning er vist i Figur 25.

Ved anden prøvetagning var det ikke muligt at detektere MRSA fra overfladerne i treatment gruppen, mens begge prøver fra kontrolgruppen var positive. Ved tredje prøveindsamling sås en stigning i værdierne for både kontrol- og treatmentgruppe, hvor kontrolgruppen havde højere værdier end treatmentgruppen.



Figur 25. MRSA-værdier fra to overfladeprøver (LogCFU/100 cm²) ved de to sidste prøvetagningstidspunkter for kontrol- og treatment-gruppe i anden forsøgsrunde med Detoxy.

Konklusion fra begge forsøgsrunder | Detoxy

Resultaterne fra første forsøgsrunde var desværre meget usikre, eftersom de indsatte grise ved indsættelse havde ubetydelige mængder MRSA i næsehulen. Det var således ikke meningsfuldt at udføre statistiske beregninger for at vurdere eventuelle ændringer i MRSA-niveauer. For at rette op på dette blev der til anden forsøgsrunde indkøbt grise fra en anden leverandør med højere koncentrationer af MRSA på dyrene. Resultaterne fra denne anden runde viste ingen forskel på MRSA-niveauer i næsehulen mellem grupper af grise, mens niveauerne i luftprøverne var højere i behandlingsgruppen end i kontrolgruppen. Til gengæld var niveauerne i både støv og på overflader lavest i forsøgsgruppen.

Konklusioner for alle forsøg

Der er i dette projekt afprøvet en række teknologier, som i deres grundprincip har været meget forskellige. Alle teknologier har vist effekter overfor MRSA under laboratorieforhold, og det var derfor afgørende i dette forsøg at tage dem ud og afprøve dem under rigtige produktionsforhold. Her viste ingen af teknologierne sig at have nogen sikker effekt. En mulig undtagelse er Detoxy, den fotokatalytiske maling, som muligvis har en vis effekt på MRSA i støv og på overflader, hvor det aktive princip netop virker. Det kan være relevant at undersøge denne effekt i et større forsøgs set-up.

Til gengæld har forsøgene givet os mere viden om koloniseringsdynamikken for MRSA hos grise, og hvordan kimtallene hos grisene ændrer sig over tid. Niveauerne af MRSA i næsesvaberprøverne lå generelt omkring 10^3 cfu/prøve ved indsættelse af grisene og aftog hen over forsøgsperioden med ca. en logaritmisk enhed. Gennemsnitligt fandtes de højeste værdier ved første prøvetagning, de laveste ved tredje prøvetagning, mens værdierne ved anden prøvetagning lå derimellem. Dette var generelt tilfældet for både forsøgshold og kontrolhold, omend der inden for holdene var nogen dyr-til-dyr variation. Dette svarer godt til, hvad vi ved om MRSA-niveauer hos grise, nemlig at de største antal forekommer hos fravænningsgrise og aftager hos slagtesvin.

Luft- og støvprøverne viste en større variation, men det generelle billede var, at niveauerne af MRSA i luftprøver ved anden og tredje prøvetagning lå omkring $10^{1,2}$ - $10^{1,6}$ cfu/m³ og i støv omkring 10^4 cfg/g ved både anden og tredje prøvetagning, dette igen hos både forsøgs- og kontrolhold.



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.