

INGEN REDUKTION AF MRSA I GRISENE ELLER I STALDMILJØET I MÅNEGRISSTALDEN SPACE

Poul Bækbo og Helle Mølgaard Sommer

SEGES Svineproduktion, Den rullende Afprøvning



Hovedkonklusion

Forekomsten af MRSA kunne ikke påvises at være reduceret ved brug af biocidet UDF2 i en indsættelsesluse og ved daglig forstøvning over smågrisene i en syv-ugers periode – heller ikke i kombination med et nyt gylleudslusnings- og ventilationsprincip.

Sammendrag

Husdyr-MRSA forekommer i de fleste danske svinebesætninger, og der er et stort fokus på at nedsætte og om muligt forhindre spredning herfra til det omgivende samfund, særligt til hospitalerne. I denne afprøvning er det derfor undersøgt, om det ved hjælp af et effektivt biocid (desinfektionsmiddel) og et nyt gyllehåndterings- og ventilationsprincip ville være muligt at nedsætte forekomsten af MRSA i grisene og i staldmiljøet.

Det var desværre ikke muligt at påvise en reduktion i forekomsten af MRSA ved brug af biocidet UDF2 i en indsættelsesluse og ved daglig forstøvning over smågrisene i en syv-ugers periode – heller ikke i kombination med dette nye gylleudslusnings- og ventilationsprincip (plasttragte; SPACE®).

Afprøvningen blev gennemført i én smågrise- og slagtesvinebesætning med indkøb af fravænnede grise fra én og samme besætning. Afprøvningen blev gennemført i smågrisesektionerne og i besætningens modtagerum. I modtagerummet blev der etableret en elektrostatisk sluse, hvor de fravænnede grise blev overbruset med biocidet UDF2. Der blev ligeledes etableret et tågeforstøvningsanlæg til daglig udbringning af biocidet UDF2 i to af smågrisesektionerne: en med plasttragte og i én af to ens sektioner med traditionelt gyllehåndteringssystem, hvor den anden sektion blev anvendt som kontrolsektion. Smågrisesektionernes størrelse var på 162 m² og 500 m³ med 20 stier i hver sektion.

Forekomsten af MRSA blev undersøgt dels ved næsesvaberprøver fra grisene, dels ved luft-støvprøver og støvprøver fra inventaret. Undersøgelsen er gennemført i samarbejde med Danmarks Tekniske Universitet (DTU), som var ansvarlig for laboratorieanalyserne for MRSA.

Baggrund

MRSA står for Methicillin resistente *Stafylokokkus aureus*, dvs. en stafylokok-bakterie, der er resistent overfor antibiotikummet methicillin, hvilket tillige gør den resistent overfor alle andre beta-lactamer, inklusive penicillin, og ofte andre antibiotika, herunder tetracyclin. Typisk er bakterien dog følsom overfor nogle 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, herunder MRSA, en udfordring som såkaldte hospitalsinfektioner, der bl.a. kan give blodforgiftning. MRSA har været kendt siden 1960'erne og udgør en stigende udfordring på hospitalerne i Danmark og resten af verden.

I 2005 blev husdyr-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 88 % i 2016 [2]. Bakterien er også påvist i mindre grad hos andre husdyr, herunder slagtekalve, malkekøer, fjerkræ, mink og heste.

Husdyr-MRSA blev første gang påvist i en dansk gris i 2007. Husdyr-MRSA 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 inficeret svinebesætning, vil tabe bakterien spontant i løbet af én eller få dage. Husdyr-MRSA spredes mellem besætninger primært ved handel af dyr, men mennesker betragtes at udgøre en væsentlig smitterisiko. De seneste tal for nye tilfælde af husdyr-MRSA i mennesker viser, at forekomsten har ligget stabilt de seneste seks år med 1.100-1.200 årlige tilfælde [3]. Cirka 85 % af disse tilfælde har været såkaldte raske bærere uden sygdom. Hvis der optræder sygdom, forekommer der hyppigst infektion i hud eller underliggende bløddele.

For at mindske risikoen for, at husdyr-MRSA 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 nedbringes markant.

Projektets formål var at undersøge, om smitteniveauet i grise og i staldluft i en husdyr-MRSA-inficeret besætning kunne nedbringes væsentligt under anvendelse af en ny desinfektionsmetode, hvor et biocid (UDF2) med god effekt mod MRSA dels blev sprayet udover grisene i en elektrostatisk sluse før indsættelse i stalden, og dels blev sprayet dagligt udover grisene via dyser i staldrummet. Desuden er der set på den samlede effekt af UDF2 og et nyt patenteret ventilations- og gyllehåndteringssystem (SPACE ® plasttragte). Fokus har været på reduktion af husdyr-MRSA i smågrisene og i staldmiljøet i smågristalden.

Undersøgelsen er gennemført i samarbejde med Danmarks Tekniske Universitet (DTU), som har været ansvarlig for laboratorieanalyserne for MRSA. Undersøgelsen indgik som en del af et større GUDP-støttet projekt, SPACE (journal nr. 34009-16-1190).

Materialer og metoder

Afprøvningen blev gennemført i en smågrise- og slagtesvinebesætning med indkøb af fravænnede grise fra én og samme besætning. Afprøvningen blev gennemført i besætningens modtagerum for de fravænnede grise og i smågrisesektionerne. I modtagerummet blev etableret en elektrostatisk sluse med overbrusning med biocidet UDF2 (Figur 1).



A



B



C



D

Figur 1. Fotos af den elektrostatiske sluse, som forøgsgrise opholdte sig i inden indsættelse i smågrisestalden.

A: en tom sluse med tre forstøvere hængende ned fra loftet.

B: grise på vej ind i slusen.

C og D: forstøvning af UDF2 ud over grisene i slusen.

Forsøgsstalde og flow af grise

Der blev anvendt to ens smågrisesektioner samt en tredje med et andet nyligt patenteret gyllehåndterings- og ventilationsprincip (plasttragte med udsug under spalterne) (Figur 2).

Afprøvningen blev således gennemført i tre smågrisesektioner:

- 1) En forsøgssektion med tågedesinfektion med UDF2 og med plasttragte, hvor grisene blev indsat via en sluse.
- 2) En forsøgssektion med tågedesinfektion med UDF2 (traditionelt gyllesystem), hvor grisene blev indsat via en sluse.
- 3) En kontrolsektion (traditionelt gyllesystem), hvor grisene ikke blev indsat gennem en sluse men derimod direkte i sektionen.

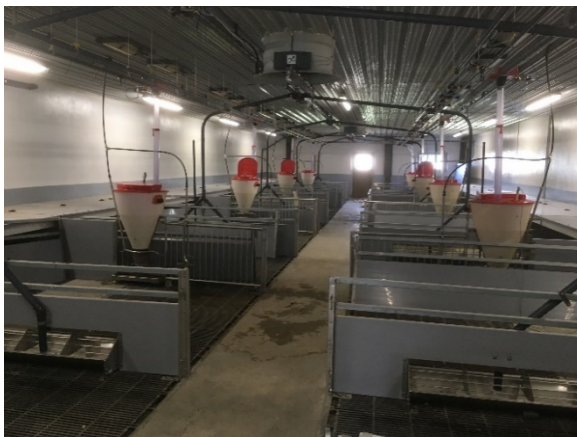
Sektionernes størrelse var på 162 m² og 500 m³ med 20 stier i hver sektion. Der blev etableret et tågeforstøvningsanlæg til udbringning af biocidet UDF2 i to af smågrisesektionerne (Figur 3): sektionen med plasstragte (sektion 1) samt i én af de to ens sektioner med traditionelt gyllehåndteringssystem (sektion 2).



A



B



C

Figur 2. Plasstragte (SPACE ®) ved montering i staldgulvet (A og B). Der blev støbt fast gulv omkring tragtene, og støbejernsspalter blev lagt oven på disse. Ventilationsudsugget gik lige under spalterne (gulvudsug – ikke vist) og ned til en fælles aftrækskanal under plasstragtene. C viser den færdigt monterede smågrisestald med plasstragte under støbejernsspalterne.



Figur 3. Forstøvning af biocidet UDF2 fra dyse i loftet i de to forsøgssektioner (sektion 1 og 2). Forstøvningen skete dagligt gennem hele forsøgsperioden på seks uger.

Ca. 300 7-kgs grise blev hver uge indsat i den ene side af en smågrisesektion. Ugen efter blev stalden fyldt op med den næste halvdel. En smågrisesektion med i alt 600 grise blev på denne måde fyldt over to uger.

Gennemførelse

Desinfektionsmetode i forsøgssektionerne

Metoden bestod af to dele:

- 1) En indsættelse af grisene via en sluse
- 2) En løbende desinfektion:
 - Grisene opholdt sig i slusen i ti min. inden indsættelse i smågrisestalden. I slusen gik de i et fodbad med UDF2 og blev udsat for en elektrostatisk forstøvning af UDF2 (19 l UDF2/ti min). Den elektrostatiske forstøvning bevirker, at biocidet klæber specielt godt til overfladen af grisene. Der var maks. 75 grise i slusen pr. omgang.
 - Gennem dyser over stierne blev grisene dagligt udsat for én forstøvning af UDF2 (4 l/dag, svarende til ca. ni min pr. dag). Under forstøvning blev der lukket for ventilationen. Forstøvningen skete sidst på dagen for at undgå varme perioder midt på dagen.

Både i forsøgs- og kontrolsektioner blev der foretaget grundig rengøring, desinfektion og udtørring mellem hver batch af smågrise. Desinfektionen blev foretaget med UDF2 (4 l pr. sektion fordelt ved en varmtåge).

Grupper

Afprøvningen blev gennemført med parallelt forløbende forsøgs- og kontrolgrupper.

Gruppe 1: Forsøg – UDF2 og plasttrugte, sektion 1

Gruppe 2: Forsøg – UDF2, sektion 2

Gruppe 3: Kontrol, sektion 3

Hver afprøvningsrunde (gentagelse) bestod af tre samhørende smågrisesektioner, der enten var forsøgssektion (1 og 2) eller kontrolsektion (3). Grisene blev i hver afprøvningsrunde indsat over seks uger i de tre sektioner, hvor afprøvningen blev gennemført.

Udtagning af prøver og analyser

Der blev udtaget følgende prøver til undersøgelse for MRSA:

Tryneprøver (næsesvaberprøver) blev udtaget tre gange i hver afprøvningsrunde af forsøgsgruppegrise (gruppe 1 og 2):

- 1) Ti tilfældigt udtagne grise før slusen og ugen efter (uge 1 og 2) (prøve A)
- 2) Ti grise efter indsættelse i smågrisesektionen efter slusen (én fra hver sti) og ugen efter (uge 1 og 2) (prøve B). Prøverne blev udtaget en-to timer efter gennemgang af slusen.
- 3) 20 grise ved afgang fra smågrisesektion (én fra hver sti) (uge 7) (prøve C)

Tryneprøverne blev kun udtaget to gange fra kontrolgruppen (gruppe 3) (svarende til punkt 2 og 3 i ovenstående = prøve B og C).

Herudover blev følgende prøver udtaget fra staldmiljøet:

- Støv fra staldluften (luftmåling over en syv-timers måleperiode):
 - Dobbeltmålinger to gange: ugen efter fyldt smågrisesektion (uge 3) og ved afgang fra smågrisesektion (uge 7).
- Støv fra overflader:
 - Dobbeltmålinger én gang: ved afgang fra smågrisesektion (uge 7).

Der blev ligeledes udtaget følgende prøver til undersøgelse for andre smitstoffer:

- Én sokkeprøve blev udtaget to gange pr. afprøvningsrunde pr. sektion: ved fyldt smågrisesektion (uge 2) og ved afgang fra smågrisesektion (uge 7).
- Sokkeprøven blev undersøgt ved qPCR for diarresmitstoffer: *Lawsonia*, *Brachispira* og *E. coli*.

Alle prøver blev afsendt på køl samme dag som udtagelse og undersøgt med anerkendte laboratoriemetoder på Danmarks Tekniske Universitet (DTU).

Registreringer

For hver smågrisestaldsektion blev følgende faktorer registreret:

- Antal indsatte smågrise
- Dato for dødsfald og antal
- Antal grise ved afgang
- Behandling med antibiotika
 - Antal behandlede grise
 - Dato for behandling
 - Administrationsvej (indsprøjtning eller gennem munden)
 - Årsag til behandling

Forsøgsreferenceramme

Hypotese

Den anvendte desinfektionsmetode, alene eller i samvirke med et nyt gyllehåndteringssystem (plasttragte), formår at nedbringe smittepresset med MRSA væsentligt.

Primære og sekundære variable

Den primære variabel er forekomsten af MRSA i grisene.

De sekundære variable udgøres af:

- Dødelighed
- Anvendelse af antibiotika
- Forekomst af diarresmitstoffer

Design

Afprøvningen er gennemført som et longitudinelt studie.

Ved dimensioneringen er der regnet på forekomsten af inficerede grise med antagelse af, at næsten alle er inficerede ved ankomst (98 %):

Forudsætning: 98 % MRSA-forekomst som udgangspunkt og en teststyrke på 80 % og ensidet-test. Ved seks afprøvningsrunder (gentagelser) kan der identificeres en forskel i MRSA-forekomst fra 98 % til 27 %. Det vil sige, at ved seks gentagelser skal UDF2 og plasttragte være så effektive, at de reducerer forekomsten af inficerede grise fra 98 % ved ankomst til under 27 % ved afgang fra smågrisestalden, for at forskellen kan siges at være signifikant. Med andre ord, så skal der være en reduktion på 71 %, før man med sikkerhed kan konkludere, at der er tale om en reduktion af forekomsten af MRSA.

Staldsektionen udgjorde forsøgsenheden. Efter gennemførelse af 50 % af afprøvningsrunderne (2 x 3 forsøgshold og tre kontrolhold) blev der foretaget en dataopgørelse af MRSA-resultaterne som grundlag for at beslutte, om undersøgelsen skulle køre til ende eller ophøre.

Undersøgelsen blev gennemført i perioden efteråret 2019 til foråret 2020.

Resultater og diskussion

Fokus ved resultatopgørelsen har været på forekomsten af MRSA i grisene. Ved midtvejsopgørelse af de første tre afprøvningsrunder fandtes, at stort set alle grisene på alle undersøgelsestidspunkter var bærer af MRSA i trynen. Da der heller ikke var forskel i mængden af MRSA i grisene i de enkelte forsøgsgrupper, blev det besluttet, at afprøvningen skulle ophøre.

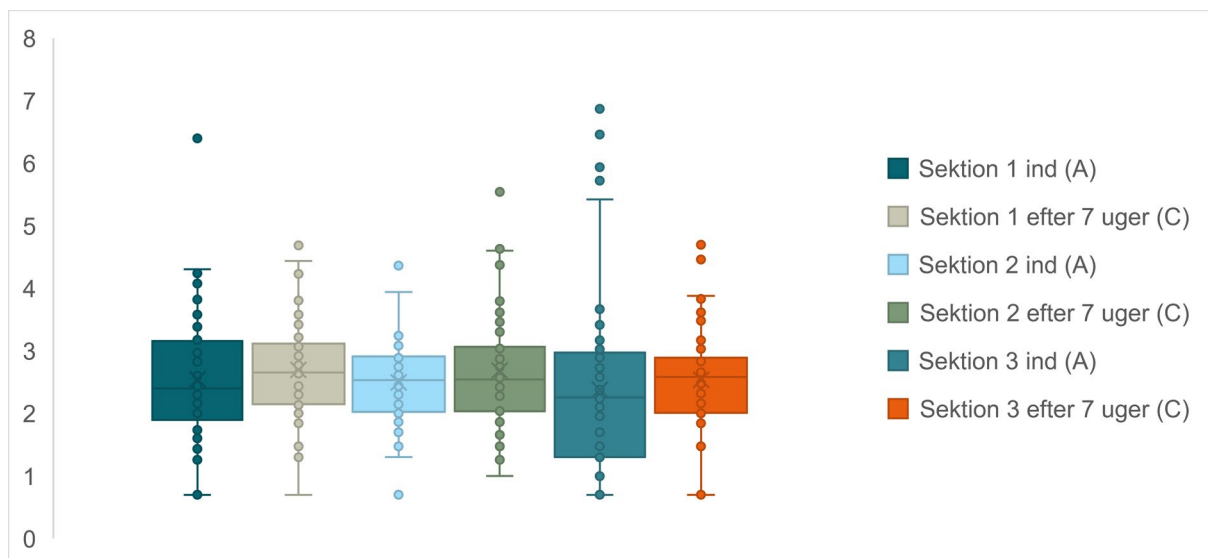
I det følgende gennemgås resultaterne fra de tre afprøvningsrunder. Mængden af MRSA er angivet som CFU (**C**oloni-**F**orming-**U**nits, dvs. bakteriekolonier på en bakterievækstplade).

MRSA i trynehulen på grisene

Samlet effekt af sluse og daglig biocidforstøvning (prøve A i forhold C)

Den samlede effekt kan måles ved at sammenligne de indsamlede prøver ved indsættelse (A) med prøver efter syv uger i sektionerne (C). De opnåede resultater fra sektion 1 og 2 (gruppe 1 og 2) kan sammenlignes med kontrolsektion 3 (gruppe 3), hvor ingen tiltag er gjort (ingen sluse eller desinfektionsmiddel overbrusning).

Det samlede resultat fra disse tre afprøvningsrunder viste ingen effekt af biocidinfektion (sektion 2 = gruppe 2) eller af den kombinerede effekt af biocidet og det nye gyllehåndteringssystem (sektion 1 = gruppe 1) (Figur 4). Mængden af MRSA i trynehulen var for de to forsøgssektioner og for kontrolsektionen (sektion 3 = gruppe 3) den samme ved afgang fra staldsektionerne (C) som ved indsættelse (A).

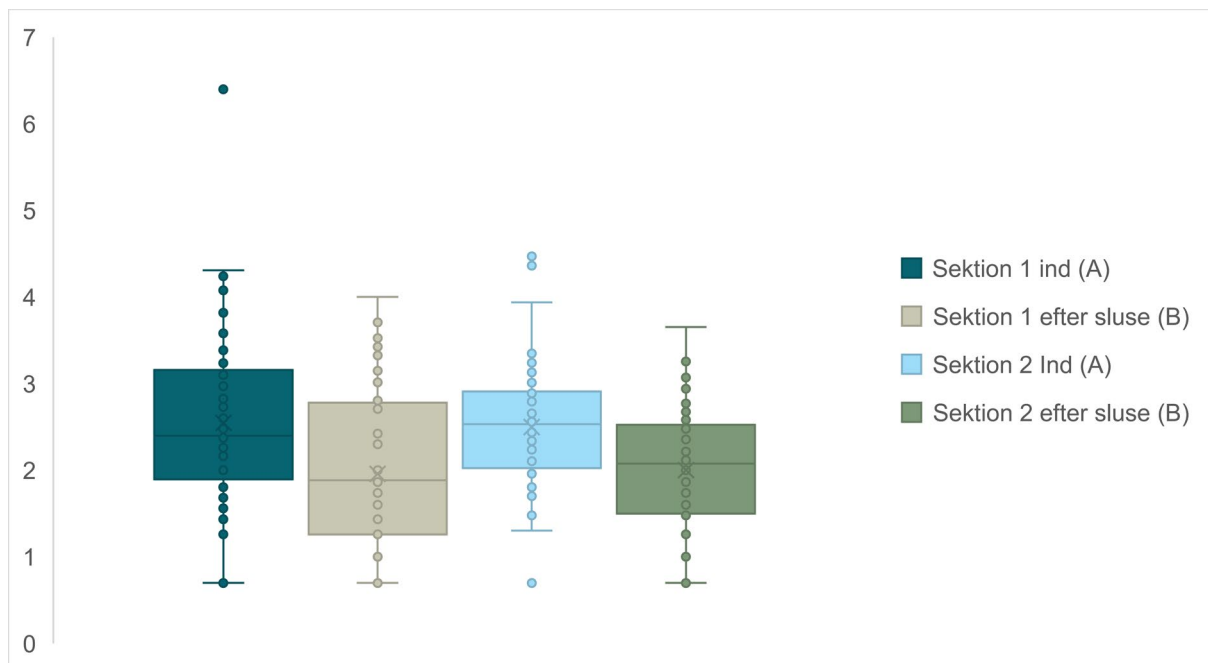


Figur 4. Samlet oversigt over effekten af ophold i de tre sektioner. En samlet værdi for de tre afprøvningsrunder for prøver ved indsættelse (A) og udtagning efter syv uger (C) er præsenteret. Stregen i kassen angiver middelværdien (medianen) for forekomsten af MRSA. Ingen effekt ses for ophold i de tre sektioner. Y-aksen viser mængden af MRSA i trynen, angivet som LogCFU.

Herefter vises resultater fra hhv. indsættelse via slusen og den daglige forstøvning i staldsektionerne (sektion 1 og 2).

Effekt af sluse (prøve A i forhold til prøve B)

Det samlede resultat fra de tre afprøvningsrunder viser ingen betydelig effekt af slusen (Figur 5).

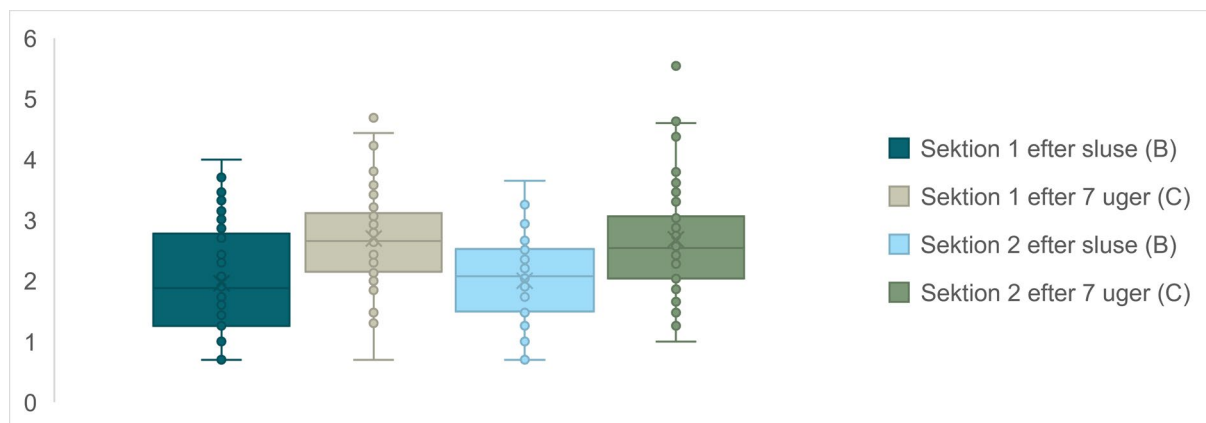


Figur 5. Sammenligning af MRSA-forekomsten i indsamlede trynesvaberprøver i sektion 1 (gruppe 1) og sektion 2 (gruppe 2) ved indsættelse (A) og efter sluse (B). Værdierne er et gennemsnit af de tre gennemførte afprøvningsrunder. Stregen i kassen angiver middelværdien (medianen) for forekomsten af MRSA. Der observeres et lille fald i forekomst af MRSA i de indsamlede svaberprøver, efter grisene har været gennem slusen. Y-aksen viser mængden af MRSA i trynen angivet som LogCFU.

For begge sektioner observeres et svagt fald i forekomst af MRSA i de indsamlede trynesvaberprøver efter indsættelse via slusen, forskellen er dog ikke signifikant.

Effekt af overbrusning i staldsektioner (prøve B mod prøve C)

I begge forsøgssektioner ses en stigning af forekomsten af MRSA fra indsættelse til afgang efter syv uger (Figur 6).



Figur 6. Sammenligning af forekomst af MRSA i indsamlede svaberprøver i sektion 1 (gruppe 1) og sektion 2 (gruppe 2) efter slusen (B) og efter syv ugers indsættelse (C). Værdierne er et gennemsnit af de tre gennemførte afprøvningsrunder. Stregen i kassen angiver middelværdien (medianen) for forekomsten af MRSA. Der observeres en stigning i forekomst af MRSA i de indsamlede trynesvaberprøver over tid. Ved at sammenligne sektion 1 med sektion 2 ses ingen effekt af det installerede gylletragt system i sektion 1. Y-aksen viser mængden af MRSA i trynen angivet som LogCFU.

Den samlede konklusion på forekomsten af MRSA i trynen i grisene viser, at der på trods af en lille reduktion som følge af indsættelse via slusen (Figur 5) ikke er en samlet effekt af biocidbehandlingen i slusen eller i stalden og det nye gylletragt system – dvs. ingen reduktion af MRSA-infektion i grisene fra indsættelse til afgang fra smågrisestalden (Figur 4).

MRSA i staldluften

Ved langtidsmålingerne af MRSA i luften over en arbejdsdag fandtes ingen klar effekt af forsøgsbehandlingerne. I alle tre sektioner fandtes både stigende og faldende indhold af MRSA i luften ved sammenligning af indgangs- og afgangsprøverne. Desuden lå alle afgangsprøverne for de tre sektioner på samme niveau.

MRSA i overfladestøvet i stalden

Der fandtes en stor variation i forekomsten af MRSA i overfladestøvet udtaget efter seks ugers ophold af grisene i stalden. Der var således ingen klar effekt af forsøgsbehandlingerne i sektion 1 (gruppe 1) og sektion 2 (gruppe 2).

Diarrésmitstoffer

Ved alle tre afprøvningsrunder fandtes en høj forekomst af *E.coli* (F4 og F18) ved indsættelse af grisene og ingen eller en meget lav forekomst efter syv uger i alle tre sektioner (inkl. kontrolsektionen). Dette er et forventeligt resultat, da *E.coli* er normalt forekommende umiddelbart efter fravæning (indsættelse i stalden) men er af mindre betydning, efterhånden som grisene bliver ældre.

Lawsonia og *Brachyspira* blev, på nær i ét tilfælde, ikke påvist i grisene ved indsættelse i stalden. *Lawsonia* blev derimod påvist i moderat mængde i alle prøverne udtaget efter syv uger i alle tre

sektioner. Dette harmonerer også med det normale – at *Lawsonia* først dukker op i smågrisestalden adskillige uger efter fravæning.

Dødelighed blandt grisene og anvendelse af antibiotika

På det foreliggende datagrundlag kunne der ikke påvises en effekt af forsøgsbehandlingerne, hverken på dødeligheden blandt grisene eller på forekomsten af antibiotikabehandlinger (Tabel 1). På trods af en relativ stor forskel i antallet af behandlinger i de tre grupper kan der ikke siges at være en reel forskel. Dette skyldes, at det totale antal behandlinger i høj grad styres af antallet af flokbehandlinger, og der er ingen signifikant forskel på, om der er givet en, to eller fire flokbehandlinger på baggrund af de tre afprøvningsrunder i hver sektion.

Tabel 1. Dødelighed og antibiotikaforbrug.

Gruppe i smågrisesektion	3 Kontrol	2 Forsøg UFD2	1 Forsøg UFD2 + plasttragte
Antal indsatte grise, stk.	1894	1828	1878
Antal afprøvningsrunder (gentagelser)	3	3	3
Antal døde	31 (1,6 %)	31 (1,8 %)	59 (3,2 %)
Total antal behandlinger	962 (50,8 %)	661 (35,8 %)	2162 (116,3 %)
- Heraf luftvejslidelse, enkeltdyrsbeh.	2 (0,1 %)	0 (0 %)	2 (0,1 %)
- Heraf mave-tarm lidelse, enkelt- og flokbeh. givet som enkeltdyrsbehandling	951 (50 %)	647 (35 %)	2145 (114 %)
givet som flokbehandling	353 (18,6 %)	337 (18,2 %)	252 (13,4 %)
Antal gange flokbehandling er givet	600 (31,7 %)	310 (16,8 %)	1893 (101,8 %)
- Heraf benproblemer, enkeltdyrsbeh.	2	1	4
- Heraf halebid, enkeltdyrsbeh.	6 (0,3 %)	9 (0,5 %)	9 (0,5 %)
	1 (0,1 %)	5 (0,3 %)	6 (0,3 %)

Tal i parentes angiver antallet af dyr eller behandlinger divideret med antal indsatte grise som procent.

Flokbehandling blev kun anvendt ved mave-tarmlidelse.

Konklusion

Samlet set kunne der ikke påvises en nedgang i forekomsten af MRSA ved forsøgsbehandlingerne, hverken i grisene eller i staldmiljøet. Brugen af biocidet UDF2 i en indsættelsesluse og ved daglig forstøvning over grisene i en syv-ugers periode kunne således ikke nedbringe MRSA forekomsten – heller ikke i kombination med et nyt gylleudslusnings- og ventilationsprincip, hvor afgangsluften bliver fjernet under spalterne.

Det var heller ikke muligt at påvise en effekt af forsøgsbehandlingerne på diarrésmittoffer, på grisenes dødelighed eller på anvendelsen af antibiotika.

Referencer

- [1] Voss A, Loeffen F, Bakker J, Klaassen C, Wulf M. (2005). Methicillin-resistent *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.
- [3] Svar nr. 688 fra Folketingets Miljø- og Fødevareudvalg (13.09.2020)

Deltagere

Tekniker: Linda Sandberg Pedersen

Andre deltagere:

En stor tak til Lars Bogø Jensen, DTU, der var ansvarlig for MRSA-undersøgelserne samt opgørelserne af disse.

Afprøvning nr. 1599

NAV nr.: 1372

Journalnr. (GUDP): 34009-16-1190

//NIRW//

Dyregruppe: Grise

Fagområde: Arbejds miljø

Nøgleord: dyre-MRSA, biocid, gyllesystem



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.