

Videncenter for
Svineproduktion

OPGØRELSE OVER OMLØBER- UNDERSØGELSERNE

NOTAT NR. 1417

Undersøgelser af sæd fra ornestationer i Danmark har vist, at der er antibiotikaresistente bakterier, bl.a. Proteus og Chlamydier, til stede i en mindre del af de færdige sæddoser, samt i forhuden på ornerne. Betydningen af disse fund kendes ikke.

INSTITUTION: VIDENCENTER FOR SVINEPRODUKTION, DEN RULLENDE AFPRØVNING

FORFATTER: **BIANCA MATHIASSEN**

CLAUS HANSEN

BENT NIELSEN

BIRGITTA SVENSMARK

UDGIVET: 13. MAJ 2014

Dyregruppe: Orner

Fagområde: Reproduktion

Sammendrag

Undersøgelser af råsæd og produktionssæd fra udvalgte ornestationer hos Hatting-KS og Ornestations Mors har vist, at der er antibiotikaresistente bakterier til stede i en mindre del af de færdige sæddoser, samt i forhuden på ornerne. Der er blandt andet fundet Proteus og hæmolytiske streptococcer. Der er endvidere påvist chlamydier i få prøver af råsæd. Betydningen af disse fund for omløberprocent og faringsprocent er ikke kendt for nuværende.

I slutningen af januar 2013 blev der ændret på indholdet af antibiotika i sædfortynderen. I stedet for den normale cocktail af amoxicillin/gentamycin blev der brugt gentamycin som eneste antibiotika i sæddoserne, da amoxicillin ikke længere kunne leveres. I foråret 2013 kom der flere henvendelser fra

besætninger om forhøjede omløberprocenter. På baggrund af skiftet af antibiotikatype samt det øgede antal klager blev det besluttet at gennemføre to mindre undersøgelser. Del 1 var undersøgelse af forekomst af resistente bakterier i forhuden hos danske KS-orner. Del 2 var en undersøgelse af effekt af tre forskellige typer antibiotika i sædfortynderen.

Baggrund

Igennem en længere periode har der været anvendt en amoxicillin/gentamicin antibiotikacocktail til KS sæd i Danmark. I januar 2013 blev der skiftet fra amoxicillin/gentamycin til gentamycin i sædfortynderen på grund af tekniske problemer med amoxicillin hos såvel Hatting-KS som Ornestation Mors.

I løbet af foråret modtog Ornestation Mors et øget antal henvendelser fra besætninger, der havde oplevet en forhøjet omløberprocent. VSP kunne ikke udelukke, at den forhøjede omløberprocent kunne relateres til skiftet i antibiotika. VSP besøgte Ornestation Mors og gennemgik alle tekniske forhold omkring selve produktionen af produktionssæd på laboratoriet. Der kunne ikke påvises forhold, der kunne forklare en forhøjet omløberprocent. I juni 2013 skiftede Ornestation Mors til EU-cocktail, da man frygtede, at problemerne kunne være relateret til brugen af gentamycin som eneste antibiotika i fortynderen. EU-cocktailen produceres af firmaet Minitube og indeholder fire typer antibiotika: streptomycin, penicillin, lincospectin og spectinomycin. I samme periode som der blev skiftet til EU-cocktailen hos Ornestation Mors, blev det besluttet at gennemføre undersøgelser, der kunne afdække om resistente bakterier hos ornerne kunne være årsagen til problemerne, samt at undersøge effekten af gentamycin eller amoxicillin og gentamycin eller EU-cocktailen som antibiotika i sædfortynderen.

Formålet var at undersøge, om der fandtes resistente bakterier i forhuden hos KS-orner (del 1) samt undersøge effekten af de tre forskellige typer antibiotika tilsætninger (del 2). Del 1 blev gennemført i juni 2013. Del 2 blev gennemført i juli 2013.

Materiale og metode

Ved dyrkning og isolering af bakterier blev der brugt i alt fire forskellige dyrkningsmetoder.

Del 1: Aerob dyrkning på blodagar (Columbiaagar), mikroaerofil dyrkning på blodagar, samt Drigalski agar.

Del 2: Aerob samt mikroaerofil dyrkning på blodagar ved 37C samt aerob dyrkning på gærekstraktagar ved 22 °C.

Blodagar bruges især til isolering af aerobe, Grampositive bakterier, så som *Enterococcer*, *Staphylococcer* og *Streptococcer*, herunder hæmolytiske *Streptococcer*.

Drigalski agar bruges særligt til isolering og dyrkning af gram negative stavbakterier, herunder *Enterobacteriaceae*. Den hæmmer gram positive bakterier. Der ses bl.a. god vækst ved dyrkning af *E.coli*, samt *Proteus*.

Mikroaerofil dyrkning på blodagar bruges til at isolere og dyrke fakultativt anaerobe bakterier, såsom *Salmonella*, *Proteus*, *E.coli* mfl.

Del 1.

Denne undersøgelse blev gennemført for at give en idé om, hvilke resistente bakterier der forekom i forhudene på ornerne, og som derved potentielt ville kunne findes i den antibiotikaholdige sæddose.

I juni 2013 blev der lavet forhudssvab fra orner på to ornestationer fra Ornestation Mors, samt orner fra to ornestationer fra Hatting-KS. Der blev undersøgt for kimtal, samt effekt af antibiotika i alle de indsendte prøver på Laboratorium for Svinesygdomme. Amoxicillin-resistens blev kun undersøgt i udvalgte prøver.

Forhudssvab

Forhudssvab blev udtaget fra udvalgte orner og derefter placeret i 1 ml sædfortynder tilsat antibiotika; gentamycin i den ene gruppe og EU-cocktail i den anden. Efter 1½ times henstand blev de sået ud og inkuberet ved 37 °C i 18 timer og derefter aflæst. Der blev anvendt tre forskellige dyrkningsmetoder til dette; almindelig aerob dyrkning på blodagar (Columbiaagar), Drigalski agar, samt mikroaerofil dyrkning på blodagar.

Fire prøver fra Ornestation Mors blev efterfølgende sået ud igen efter 20 timers henstand i fortynder med gentamycin henholdsvis EU-cocktail, for derefter at blive aflæst to dage senere. Her blev anvendt de samme tre dyrkningsmetoder.

Fra positive prøver fra Ornestation Mors og Hatting-KS blev udvalgt henholdsvis tre og fire prøver, som efterfølgende blev undersøgt for amoxicillin-resistens.

Del 2.

Denne del af undersøgelsen blev gennemført i juli 2013. Der blev indsendt råsædprøver fra fire KS-stationer fra Ornestation Mors, samt 10 KS-stationer fra Hatting-KS. Formålet var at afdække, om sæden indeholdt bakterier som overlevede forskellige typer af antibiotika, som var mulige alternativer til gentamycin i sæd.

Projektet blev gennemført som et balanceret forsøg, hvor alle sædprøver blev blandet med tre forskellige fortyndere indeholdende tre forskellige antibiotika kombinationer; 250 µg gentamycin pr. ml fortynder, 111 µg amoxicillin og 111 µg gentamycin pr. ml fortynder, samt Standard EU-cocktail. Hvert sædprøveglass indeholdt 8 ml fortynder med antibiotika og der blev tilsat 1.040 µl råsæd (blandingssæd fra 10 Duroc-orner). Det vil sige 104 µl råsæd fra hver orne.

Fra Ornestation Mors blev udtaget 79 batch og fra Hatting-KS blev udtaget 123 batch. En batch af sæd består af sammenblanding af sæd fra 10 forskellige orner. Fortynderen blev ligeledes testet for kimtal og indgik som negativ kontrol.

Hver indsendt prøve blev udsået dagen efter sædopsamling med følgende analyser:

- Gærekstrakt (GEA) 22 °C. Aflæsning efter tre dage.
- Blodagar/Columbia agar (BA) 37 °C (dyrkning i atmosfærisk luft). Aflæsning efter en dag.
- Mikroaerofil dyrkning på blodagar 37 °C (Mikro). Aflæsning efter en dag.

Ved kimtal > 20 CFU pr. ml blev bakterien typebestemt og resistensbestemt.

Resultater og diskussion

Del 1.

Forhudssvab

Forhudssvaberprøver var generelt dyrkningspositive og domineret af blandingsflora. Af potentielt patogene bakterier blev der identificeret hæmolytiske og non hæmolytiske *Streptococcer*, coliforme bakterier, samt *Proteus*.

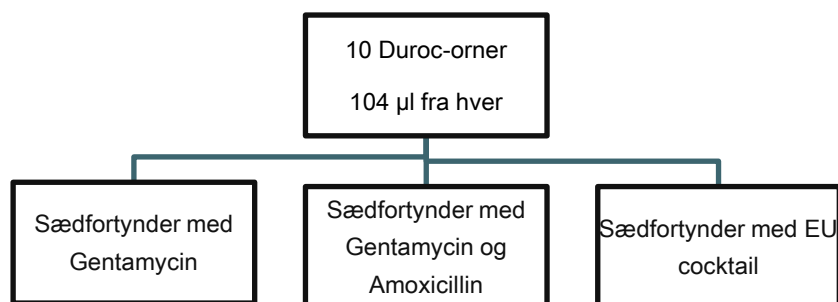
For alle stationer gjaldt at nogle prøver var sterile ved en eller to af dyrkningsmetoderne, men ingen af prøverne var sterile ved alle dyrkningsmetoder.

På baggrund af resultatet efter henstand i gentamycin og EU-cocktail, blev der udvalgt prøver til test for amoxicillin resistens; tre prøver fra Ornestation Mors og fire fra Hatting-KS. Af de syv forhudssvab var seks af dem helt resistent for amoxicillin, den sidste prøve var delvist hæmmet, idet der sås vækst, men hæmning af hæmolytiske *Streptococcer*.

Der var vækst i forhudssvaberprøver trods henstand i antibiotika både i 1½ time og 20 timer inden udsåning på agarplade. Det er svært at bedømme, om henstand i 20 timer før udsåning mod henstand i kun 1½ time kan have haft betydning for mængde eller vækst af bakterierne, grundet de få prøver. Da der var vækst af blandingsflora, er det uvist, om der kan tales om egentlig antibiotikaresistens hos patogener. Koncentrationen af de anvendte antibiotika er således ikke relateret til patogener svinebakteriers MIC-værdier.

Del 2.

Der blev udtaget i alt 185 prøver fra alle deltagende KS-stationer. Hver prøve indeholdt råsæd fra 10 orner. Der er ikke registreret, hvor mange gange hver enkelt orne har indgået i en sædblanding, så det reelle antal af orner, som er testet, er ikke noteret.



Hovedparten af prøverne var dyrkningsnegative og blandt de dyrkningspositive var kimtallene langt overvejende meget lave, tabel 1, 2 og 3.

Ni af de 12 KS-stationer havde meget få kim, det vil sige < 10 CFU pr. ml eller 0 CFU pr. ml, i deres prøver. Der resterende tre stationer havde få prøver med > 10 CFU pr. ml. Der blev oftest fundet *Proteus* i disse prøver. Om væksten af *Proteus* har haft betydning for, at andre bakterier i denne prøve er blevet hæmmet, er uvist.

Tabel 1. Fordelingen af antal prøver ved anvendelse af Gentamycin i sæden på de 12 forskellige KS-stationer.

KS-station	Gentamycin Gærekstrakt			Gentamycin blodagar			Gentamycin mikroaerofil		
	0	1-10	>10	0	1-10	>10	0	1-10	>10
Total	148 81,5 %	33 18 %	1 0,5 %	151 82 %	30 16, %	3 1,6 %	157 85 %	23 13 %	4 2 %

Tabel 2. Fordeling af antal prøver ved anvendelse af amoxicillin/gentamycin i sæden fra de 12 KS-stationer.

KS-station	Gentamycin/amoxicillin Gærekstrakt			Gentamycin/amoxicillin blodagar			Gentamycin/amoxicillin mikroaerofil		
	0	1-10	>10	0	1-10	>10	0	1-10	>10
Total	165 90 %	18 9,5 %	1 0,5 %	164 89 %	16 8,7 %	4 2,3 %	166 90 %	16 9 %	2 1 %

Tabel 3. Fordeling af antal prøver ved anvendelse af EU cocktailen i sæden fra de 12 KS-stationer.

KS-station	EU cocktail Gærekstrakt			EU cocktail blodagar			EU cocktail mikroaerofil		
	0	1-10	>10	0	1-10	>10	0	1-10	>10
CFU pr. ml									
Total	174	9	1	164	17	3	156	24	4
	95 %	4,5 %	0,5 %	89 %	9,4 %	1,6 %	85 %	13	2 %

Cocktailen bestående af amoxicillin/gentamycin gav gennemsnitlig det laveste antal BU-positive prøver, selv om EU-cocktailen ved dyrkning på gærekstrakt gav lidt færre BU-positive. Til gengæld blev der fundet flere positive prøver ved EU-cocktail kombineret med mikroaerofil dyrkning.

Konklusion

Del 1.

Ved undersøgelserne blev der fundet både hæmolytiske *Streptococcer*, *Proteus*, samt blandingsflora, som ikke alle blev identificeret. Konklusionen var, at der findes resistente bakterier i forhuden hos ornerne og disse bakterier kan være resistente over for de typer af antibiotika, der anvendes i sæden. KS-stationerne skal derfor have stor fokus på hygiejnen ved tapning af sæd, og generelt skal gødningsforekomst og forurening hermed begrænses mest muligt på KS-stationerne for at undgå gødningsforurening af råsæden ved tapning.

Del 2.

Langt hovedparten af de undersøgte prøver var BU-negative (80-95 %). Ni af de 12 stationer havde meget få kim, < 10 CFU pr. ml eller slet ingen kim i deres prøver. Der var tre stationer med prøver med kimtal > 10 CFU pr. ml. Enkelte prøver havde en kraftig vækst af *Proteus*. *Proteus* er kendt som en bakterie, der hurtigt sværmer hen over agarplader. Den kvantitative forekomst af *Proteus* i sædprøven kan derfor ikke fastslås med sikkerhed. Der blev på intet tidspunkt påvist prøver med meget højt kimtal, hvilket indikerer, at bakterierne ikke vokser ukontrolleret i sæden. De tre stationer med kimtal > 10 CFU pr. ml var ikke hyppigere repræsenteret blandt omløbersagerne end de øvrige stationer. Der er stationer, som har større forekomst af prøver med bakterier end andre stationer og det kan tænkes, at hygiejnen omkring tapning kan forbedres og være med til at nedbringe antallet af kim i sæden.

VSP opfølgning på området

VSP har i marts 2014 afholdt en workshop om forhøjede omløberprocenter, aborter mm hos danske søer. Deltagerne var: Danmarks Tekniske Universitet - Vet, Københavns Universitet - Sund, Den Danske Dyrlægeforening - Sektion Svin samt Videntcenter for Svineproduktion. Her blev der drøftet en

lang række mulige årsager til øget antal omløbere, aborter, flåd mm. Endvidere blev der udarbejdet ideer til opklarende projekter, der skulle kunne afklare de biologiske sammenhænge.

VSP har i april måned vedtaget at afsætte projektmidler til gennemførelse af projekter i 2015 og 2016. Allerede nu i maj 2014 vil VSP gennemføre telefoninterview med besætninger med akutte problemer i et samarbejde med Hatting-KS og Ornestation Mors. Disse indledende besætningsundersøgelser skal danne grundlag for de større projekter, der vil starte i 2015.

//BEN//

VIDENCENTER FOR SVINEPRODUKTION

Tlf.: 33 39 40 00

Fax: 33 11 25 45

vsp-info@lf.dk



en del af

Landbrug & Fødevarer

Ophavsretten tilhører Videncenter for Svineproduktion. 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.

Videncenter for Svineproduktion er således i intet tilfælde ansvarlig for tab, direkte såvel som indirekte, som brugere måtte lide ved at anvende de indlagte informationer.