

Meticillinresistente stafylokokker hos norske slaktegriser

TRINE L'ABÈE-LUND¹, AUD KARI FAUSKE¹, HANNAH JOAN JØRGENSEN¹, MARIANNE SUNDE², ANNE JØRGENSEN³, MADELAINE NORSTØM², OG BJØRN LIUM²

Norges veterinærhøgskole, Institutt for mattrygghet og infeksjonsbiologi¹; Veterinærinstituttet²; Helsetjenesten for Svin³.

Bakgrunn

Bakterien *Staphylococcus aureus* er utbredt hos mennesker og dyr. Den forekommer hyppig på slimhinnene i nese og svelg hos friske griser, men den kan også forårsake sykdom.

Meticillinresistente *S. aureus* (MRSA) er resistente mot alle beta-laktamantibiotika, inklusive cefalosporiner og karbapenemer. Slike antibiotika virker ved at de bindes til penicillinbindende proteiner i bakterienes cellevegg og hemmer celleveggsyntese. MRSA produserer et endret penicillinbindende protein som beta-laktamantibiotika ikke kan bindes til. Det endrede proteinet blir kodet av genet *mecA*, som ligger på bakteriens kromosom i et genetisk element som kalles "staphylococcal chromosomal cassette" (SCC*mec*). I tillegg til *mecA* kan SCC*mec* også inneholde andre resistensgener, og mange MRSA er derfor multiresistente.

I Norge er MRSA hos mennesker en gruppe A-sykdom, og påvisning av bakterien medfører meldeplikt til Meldingssystem for smittsomme sykdommer (MSIS). Fra 2001 til 2007 økte antall årlig rapporterte MRSA-infeksjoner hos mennesker i Norge fra 122 til 342 (MSIS, 2008). Bærerstatus (smitteførende bærertilstand) ble meldingspliktig i 2005 og økte fra 209 tilfeller i 2005 til 252 tilfeller i 2007. Forekomsten av MRSA hos mennesker i Norge er blant de laveste i Europa.

Med økende forekomst av MRSA både i og utenfor helseinstitusjoner, er det ikke uventet at MRSA nå påvises oftere hos dyr. I de fleste tilfeller har man mistenkt en human smittekilde, men i løpet av de siste årene ser det ut til at spesielle "dyretilpassede" MRSA-kloner har etablert seg hos gris og hest i flere land.

I 2003 ble MRSA isolert fra to svineprodusenter og deres familiemedlemmer i Nederland. I begge tilfellene viste det seg at grisene i besetningene var smittet (Voss, 2005; Huijsdens 2006). Senere ble det gjennomført en studie på slakteri hvor det ble funnet at ca 40 % av grisene var MRSA-positive (de Neeling, 2007). Det er også vist at svineprodusenter og veterinærer som jobber med svin, har økt risiko for å være MRSA-bærere (Voss, 2005; Wulf, 2006). MRSA-positive griser er for det meste friske bærere, men bakterien er blitt isolert fra griser med seborré (van Duijkeren, 2007).

Molekylærbiologiske undersøkelser har vist at det er varianter av én spesifikk MRSA-klon, ST398, som er utbredt hos svin og mennesker som arbeider med svin i Nederland. Den samme MRSA-klonen er påvist hos dyr og mennesker i flere europeiske land og i Canada (Witte, 2008), og varianter med og uten meticillinresistens er påvist hos svin og svineprodusenter i Frankrike (Armand-Lefevre, 2005) og Danmark (Guardabassi, 2007).

Det er foreløpig ikke påvist MRSA ST398 hos gris i Norge, men det er påvist MRSA i en miljøprøve fra en svinebesetning. MRSA-varianten som ble funnet tilhører en human klon, og kan skyldes human kontaminering av miljøet og/eller grisen. Den samme MRSA varianten ble også påvist fra noen få slaktegris ved oppfølgingsprøver fra besetningen.

Gris med MRSA kan utgjøre en smittefare for røkttere og veterinærer, og selv om MRSA ikke er vist å være et mattrygghetsproblem, vil forbrukerskepsis i forbindelse med påvisning av MRSA i svinekjøtt kunne ha negative konsekvenser for forbruket av svinekjøtt.

Hovedmålet med prosjektet var å undersøke om MRSA finnes hos norske slaktegriser. Slaktegris er valgt dels fordi de utenlandske undersøkelser har påvist høy forekomst av MRSA hos denne aldersgruppen, dels på grunn av at det allerede blir gjennomført en såkalt ”baselinestudie” i regi av EU i besetninger med purker (EFSA task force report, 2007). Et tilleggsmål var å beskrive forekomsten av andre stafylokokker på neselimhinnen hos slaktegriser. Koagulase-negative stafylokokker (KNS) er mindre virulente enn koagulase-positive stafylokokker, men KNS kan utgjøre et reservoar for gener som koder for meticillinresistens (*mecA/SCCmec*). Det kan derfor være nyttig å ha kjennskap til hva slags stafylokokker som finnes i normalfloraen i neselimhinnen hos norske griser.

Material og metode

Svaberprøver fra neselimhinnen hos slaktegriser ble tatt ut av Helsetjenesten for svin i perioden september til desember 2008. Prøvene ble undersøkt ved Institutt for mattrygghet og infeksjonsbiologi ved Norges veterinærhøgskole (NVH). Prøvene var anonymisert.

Det ble tatt prøver fra ett tusen slaktegriser fra 200 besetninger fordelt på 10 slakterier. Prøvene ble tatt like etter avblødningen ved at en svaber per gris ble ført 1-2 cm inn i begge nesebor og rotert. Svabrene ble sendt samme dag til laboratoriet hvor de ble undersøkt generelt for stafylokokker, og spesielt for meticillinresistente stafylokokker.

Fem og fem svabere (fra dyr fra samme besetning) ble undersøkt som samleprøve. En av de fem svabrene i en samleprøve ble strøket ut på blodagar for generell påvisning av stafylokokker. Deretter ble samleprøven undersøkt for

meticillinresistente stafylokokker ved følgende tre-trinns metode: i) inkubering i 20 ml Mueller-Hinton buljong (Oxoid LTD, England) med 6,5 % NaCl, ii) 1:10 fortykning og videre inkubering i 9 ml Trypton-Soya-buljong (TSB) (Oxoid LTD, England) med 3,5 mg/l cefoxitin og 75 mg aztreonam og iii) utstryk av 10 µl av TSB buljongen på selektiv BrillianceTM MRSA Agar (Oxoid LTD, England). All inkubering ble utført over natt ved 37 °C.

Stafylokokker ble påvist ved kolonimorfologi, Gram-farging, katalase-test, koagulase-test og anaerob vekst. Alle koagulase-positive isolater, samt et utvalg av koagulase-negative isolater, ble identifisert ved StaphZym (Rosca Diagnostica A/S, Danmark).

Resultater

Ingen MRSA ble påvist fra noen av svaberprøvene, men meticillinresistente KNS ble påvist fra 20 prøver etter selektiv oppformering.

Meticillin-sensitiv *Staphylococcus aureus* ble påvist fra to samleprøver, og meticillin-sensitive KNS ble påvist fra 180 besetninger. Fra 20 besetninger ble det ikke påvist stafylokokker.

Artsidentifisering av meticillinresistente KNS isolater, samt verifisering av meticillinresistens hos disse isolatene vil bli presentert på Husdyrforsøksmøtet.

Diskusjon

Resultatene indikerer at MRSA ikke har etablert seg som en del av normalfloraen hos slaktegris i Norge. Norges lave antibiotikaforbruk til husdyr inkludert gris er sannsynligvis en viktig årsak til den gunstige situasjonen i Norge, da høyt forbruk av bredspektrede antibiotika assosieres med høy forekomst av dyreklonen av MRSA i andre Europeiske land (de Neeling 2007).

MRSA spres mellom griser og fra gris til menneske, eventuelt fra menneske til gris, ved direkte kontakt. Man tror at den raske spredningen av MRSA ST398 hos gris i Europa skyldes utstrakt transport av dyr mellom gårder og over landegrenser. Ved import av griser fra land med høy forekomst av MRSA ST398 er det en risiko for at denne kan etablere seg også blant norske griser. En annen potensiell smittekilde til norske griser kan være mennesker som har kontakt med griser og andre dyr i land med høy forekomst av MRSA, for eksempel røktere, veterinærer eller andre rådgivere.

Evolusjonen bak MRSA ST398 hos gris er foreløpig ikke kjent, men det er antatt at *mecA* genet er overført fra meticillinresistente KNS i normalfloraen hos gris. Genetiske undersøkelser tyder på at en slik overføring kan ha skjedd flere ganger (van Belkum 2008). Hvis meticillinresistente KNS er utbredt blant norske griser er det en teoretisk mulighet for at en grisetilpasset MRSA klon kan oppstå spontant

også i Norge. Fortsatt lavt forbruk av antibiotika til husdyr vil imidlertid bidra til at risikoen for dette forblir liten.

Referanser

Armand-Lefevre, L., Ruimy, R. og Andreumont, A., 2005. Clonal comparison of *Staphylococcus aureus* isolates from healthy pig farmers, human controls, and pigs. *Emerging Infectious Diseases*, 11, 711-714.

de Neeling, A.J., van den Broek, M.J.M., Spalburg, E.C., van Santen-Verheувel, M.G., Dam-Deisz, W.D.C., Boshuizen, H.C., van de Giessen, A.W., van Duijkeren, E. og Huijsdens, X.W., 2007. High prevalence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in pigs. *Veterinary Microbiology*, 122, 366-372.

Guardabassi, L., Stegger, M. og Skov, R., 2007. Retrospective detection of methicillin resistant and susceptible *Staphylococcus aureus* ST398 in Danish slaughter pigs. *Veterinary Microbiology*, 122, 384-386.

Huijsdens, X.W., van Dijke, B.J., Spalburg, E., van Santen-Verheувel, M.G., Heck, M.E., Pluister, G.N., Voss, A., Wannet, W.J. og de Neeling, A.J., 2006. Community-acquired MRSA and pig-farming. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 5, 26.

MSIS. MSIS-Statistikk. <http://www.msis.no/>. 10-12-2008.

Report of the Task Force on Zoonoses Data Collection on a proposal for technical specifications for a baseline survey on the prevalence of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in breeding pigs, 2007. *The EFSA Journal*, 129, 1-14.

van Belkum, A., Melles, D.C., Peeters, J.K., van Leeuwen, W.B., van Duijkeren, E., Huijsdens, X.W., Spalburg, E., de Neeling, A.J. og Verbrugh, H.A., 2008. Methicillin-resistant and -susceptible *Staphylococcus aureus* sequence type 398 in pigs and humans. *Emerging Infectious Diseases*, 14, 479-483.

van Duijkeren, E., Jansen, M.D., Flemming, C.S., de Neeling, A.J., Wagenaar, J.A., Schoormans, A.H.W., van Nes, A. og Fluit, A.C., 2007. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pigs with exudative epidermitis. *Emerging Infectious Diseases*, 13, 1408-1410.

Voss, A., Loeffen, F., Bakker, J., Klaassen, C. og Wulf, M., 2005. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig farming. *Emerging Infectious Diseases*, 11, 1965-1966.

Witte, W., Strommenger, B., Stanek, C. og Cuny, C., 2007. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in humans and animals, Central Europe. *Emerging Infectious Diseases*, 13, 255-258.

Wulf, M., van Nes, A., Eikelenboom-Boskamp, A., de Vries, J., Melchers, W., Klaassen, C. og Voss, A., 2006. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in veterinary doctors and students, the Netherlands. *Emerging Infectious Diseases*, 12, 1939-1941.