

# Samenvatting proefschrift

## Livestock-associated MRSA in veal farming, risk factors for MRSA carriage in veal calves and humans

*Haijske Graveland<sup>1</sup>*

Aanvankelijk werd Methicilline resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) beschouwd als een ziekenhuis geassocieerd pathogeen (Hospital-Associated MRSA; HA-MRSA). In de jaren 90 van de vorige eeuw werd er bij de mens een toename gesignaleerd van MRSA besmettingen in de algemene bevolking (Community-Associated MRSA; CA-MRSA). In 2004 werd voor het eerst de veegerelateerde MRSA (Livestock-Associated; LA-MRSA) beschreven. Al snel bleek dat LA-MRSA op grote schaal voorkwam bij landbouwhuisdieren, voornamelijk bij varkens en vleeskalveren. Nagenoeg alle MRSA isolaten van landbouwhuisdieren bleken te behoren tot klonaal complex (CC) CC398. Humane infecties met MRSA worden geassocieerd met een verhoogde morbiditeit en mortaliteit, een langere duur van ziekenhuisopname en hogere kosten voor de gezondheidszorg. Het vóórkomen van LA-MRSA bij landbouwhuisdieren en veehouders was daarom ook aanleiding tot grote ongerustheid. Het toenmalige Ministerie van LNV startte een onderzoeksprogramma om antwoord te krijgen op de vele vragen rondom LA-MRSA. Eén project van dit onderzoeksprogramma richtte zich op de vleeskalverhouderij. Resultaten hiervan worden beschreven in dit proefschrift. De scope van dit proefschrift is echter breder. Het belangrijkste doel van dit proefschrift was het identificeren van de determinanten die een rol spelen bij LA-MRSA-dragerschap bij mensen en vleeskalveren. Verder is de persistentie en de dynamiek van MRSA-dragerschap in zowel mensen als vleeskalveren in kaart gebracht.

Er waren verschillende methoden beschreven voor MRSA isolatie uit dierlijke materialen, maar een systematisch vergelijking tussen methoden was nooit uitgevoerd. Hoofdstuk 2 beschrijft een vergelijking van drie methoden voor detectie van MRSA in neusswabs van varkens en vleeskalveren. Voorophoping van neusswabs in Mueller Hinton + 6.5% NaCl gevolgd door een selectieve ophoping gaf de beste resultaten. Als vaste (selectieve) voedingsbodem waarop de selectieve vloeibare kweek werd afgeënt, werd gekozen voor de Brilliance agar, een chromogene agar (Oxoid). De keuze werd bepaald door kweekresultaten en gebruiksgemak.

De risicofactoren voor LA-MRSA dragerschap voor zowel mensen als kalveren werden onderzocht in een dwarsdoorsnede onderzoek. De resultaten zijn beschreven in Hoofdstuk 3. In totaal namen er 102 willekeurig gekozen vleeskalverhouderijen (met zowel blanke- als rosékalveren) deel aan de studie. Dit onderzoek toonde aan dat er een direct verband was tussen humaan LA-MRSA dragerschap en het aantal MRSA positieve kalveren op het bedrijf. Kalveren die een koppelkuur met antibiotica hadden gekregen bleken vaker drager te zijn van MRSA dan kalveren die geen koppelkuur hadden gekregen. Op bedrijven

waar de stallen grondig gereinigd en/of gedesinfecteerd werden in de leegstandperiode werd MRSA minder frequent waargenomen bij de kalveren.

In Hoofdstuk 4 staan de resultaten beschreven van verschillende gestratificeerde analyses van determinanten voor MRSA dragerschap in kalveren. Ook uit deze analyses bleek dat voor zowel blanke kalveren als rosé kalveren antibioticagebruik positief geassocieerd was met MRSA dragerschap. Deze bevinding benadrukt het belang van verantwoord (restrictief) antibioticumgebruik. Verschillende leeftijdsgerelateerde- en bedrijfsmanagementfactoren leken gecorreleerd te zijn met het gebruik van antibiotica in kalveren. Dit maakte de interpretatie van de resultaten complex. Deze factoren moeten afzonderlijk verder onderzocht worden in experimentele onderzoeken of interventiestudies.

In Hoofdstuk 5 staan de resultaten beschreven van een longitudinaal onderzoek in vleeskalveren. In dit onderzoek werden persistentie en dynamiek van MRSA dragerschap in kalveren onderzocht. Daarnaast werd er onderzocht hoe de determinanten zoals blootstelling aan een MRSA positieve omgeving (stof/lucht) en antibioticagebruik dragerschap in kalveren konden beïnvloeden. Ook werd onderzocht wat de herhaalbaarheid en betrouwbaarheid was van neusswab afname en MRSA analyse bij kalveren. Tevens werd de toegevoegde waarde van rectumswabs bepaald. De data lieten zien dat de MRSA prevalentie in kalveren en ook in de luchtmonsters uit de kalverstallen zeer snel stegen gedurende de mestronde. Dit gebeurde voornamelijk nadat de kalveren losgelaten werden uit hun individuele huisvesting. Opvallend was dat de toename in MRSA prevalentie niet parallel aan of direct na een antibioticabehandeling plaatsvond. Deze bevinding geeft aan dat antibioticagebruik weliswaar een rol speelt in de spreiding en dynamiek van MRSA dragerschap in kalveren, maar dat andere factoren eveneens de transmissie lijken te beïnvloeden. Zowel neus- als rectumdragerschap werden aangetoond in dit onderzoek. Rectumdragerschap werd vaker aangetoond bij kalveren jonger dan 6 weken dan bij oudere kalveren. Deze observatie draagt bij aan de hypothese dat rectale uitscheiding mogelijk een toename kan veroorzaken in MRSA load in de stallen. Deze toename in MRSA load zou de spreiding van MRSA in de kalverpopulatie kunnen beïnvloeden.

Persistentie en dynamiek van LA-MRSA dragerschap bij de mens na zowel kortdurende als langdurige blootstelling aan MRSA positieve dieren is beschreven in de Hoofdstukken 6 en 7. Mensen die kortdurend (beroepsmatig) contact hebben met MRSA positieve dieren (maximaal 3 uur per dag) werden frequent drager van MRSA. De meerderheid van deze mensen die MRSA positief testte na kortdurende blootstelling, testte binnen

<sup>1</sup> Promotie instituut: IRAS Universiteit Utrecht; promotiedatum: 29 september 2011

24 uur MRSA negatief. In kalverhouders die langdurig blootgesteld waren aan MRSA positieve dieren en omgeving, bleek de kans op MRSA dragerschap gerelateerd aan de frequentie van het directe diercontact. Gedurende perioden zonder diercontact, bijvoorbeeld tijdens leegstand- of vakantieperioden, daalde de prevalentie van MRSA bij de veehouders sterk. Deze snelle daling in prevalentie wijst erop dat de huidige circulerende kloon LA-MRSA (CC398) matig koloniseert in mensen. De resultaten suggereerden dat hoogblootgestelde mensen (kalverhouders) een risico kunnen zijn voor MRSA dragerschap voor (lager blootgestelde) familieleden.

Concluderend kan worden gesteld dat blootstelling een zeer grote rol speelt bij LA-MRSA dragerschap in mensen. Persistentie van dragerschap van LA-MRSA bij mensen is beperkt. Dit is in overeenstemming met de bevindingen van onderzoek waaruit blijkt dat de nosocomiale transmissiesnelheid van LA-MRSA laag is in vergelijking met HA-MRSA. Op basis van deze bevindingen zouden de beheersingsmaatregelen zoals opgenomen in het *'Search and Destroy'* beleid heroverwogen kunnen worden. Het CC398-gerelateerde risico op ziekte voor de veehouders is

echter nog onduidelijk en vereist nader onderzoek. Zoals ieder micro-organisme kan ook LA-MRSA zich ongetwijfeld aanpassen aan nieuwe gastheren en bijvoorbeeld genen opnemen die coderen voor toxinen. Ook zou een MRSA met andere eigenschappen de huidige CC398 kunnen vervangen. Continue surveillance bij mens en dier op voorkomen en type MRSA is een vereiste om veranderingen in epidemiologie tijdig te signaleren en hier adequaat op in te kunnen spelen.

De onderzoeksresultaten beschreven in dit proefschrift geven aanknopingspunten voor de beheersing van MRSA in de vleeskalverhouderij. Mogelijkheden liggen in het reduceren van het antibioticagebruik bij kalveren en bij het grondig reinigen en desinfecteren van de stallen in de leegstandperiode.

Nader onderzoek moet worden uitgevoerd naar de kwantitatieve bijdrage van specifieke antibiotica klassen of doseringen op het voorkomen van MRSA. Daarnaast is het aan te bevelen om de complexe structuur van de vleeskalveren productieketen te optimaliseren. Dit heeft met name betrekking op de grote variëteit in de oorsprong van de kalveren, compartimentalisatie van stallen en het creëren van mogelijkheden om deeltkoppels te behandelen met antibiotica.