



Faculty of Health and Medical Sciences



Resistens og behandling af *E. coli* diarré ved smågrise

Nicolai Weber

Dyrlæge, PhD student,

LVK,

**Institut for Produktionsdyr og Heste,
Københavns Universitet**





Disposition

- Baggrund + definitioner
- *E. coli* fund
- Resistensprofiler
- Perspektiver



Dias 2



Baggrund

- **Sygdoms definition:**

- Diarre i smågrisestalden
- "foderskiftediarre"
- Ikke klassisk fravænningsdiarre
- Enterotoxisk *E. coli* (ETEC) + *L. intracellularis* + *B. pilosicoli*
- Den diagnose hvor mest antibiotika bliver brugt
- 2013: Tetracykliner(Doxycyklin) + Makrolider(Tylosin)



Grise kan have tarminfektioner uden kliniske tegn

3060 undersøgte grise 10-66 dage efter fravænning i 16 besætninger = 32,6 % diarre

Grisens diarre-status kan ikke forudsige infektionsstatus
(Weber *et al.* 2015 ACTA)

Der findes ikke-behandlingskrævende diarreudbrud

38 besætninger undersøgt – 3 diarreudbrud i klimastald per besætning

18% af udbrud var low pathogenic (Pedersen *et al.*, 2015, PVM)

Low pathogenic: **Klinisk diarre i mere end 20% af grise hvor prevalensen af tarmpatogener er under 15%**
(Pedersen *et al.*, 2014, Irish Vet. Journal)

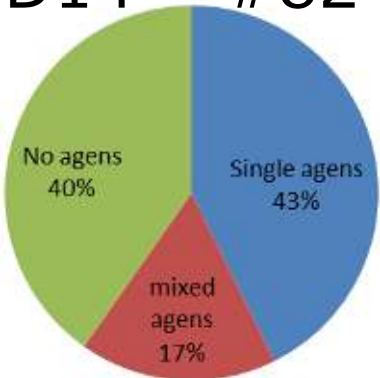


Studie design

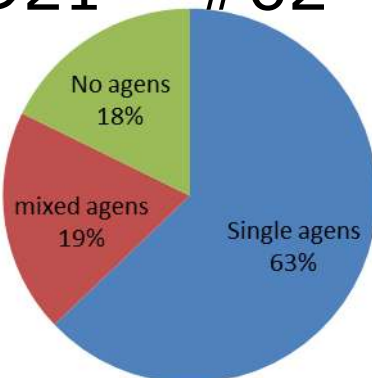
- 3 smågriseproduktioner på østlige øer
 - Ingen sygdomme ud over behandlingskrævende diarre
 - 10 sektioner
 - 8 stier per sektion fulgt fra D14 til D35 efter fravænning
 - Undersøgelse af stibundsprøver ugentlig
 - Behandlingsforsøg med Doxycyklin og Tylosin
 - Formål: **Finde optimal behandlingstidspunkt og bedste antibiotika**
-
- **E. coli undersøgelse**
 - Fæces prøver fra ubehandlede diarregrise og fra stibund i stier med en diarre prevalens >25 %
 - Formål: **Evaluer om stibundsprøver kan bruges til resistensundersøgelse**

Hvad behandler vi på?

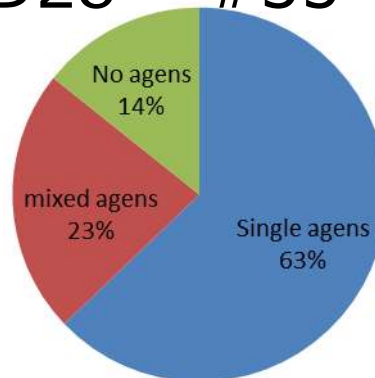
D14 #82



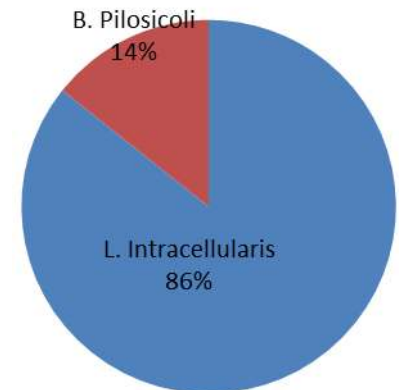
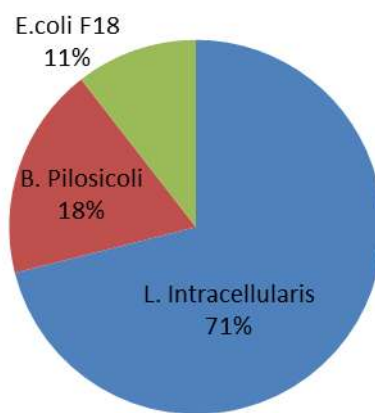
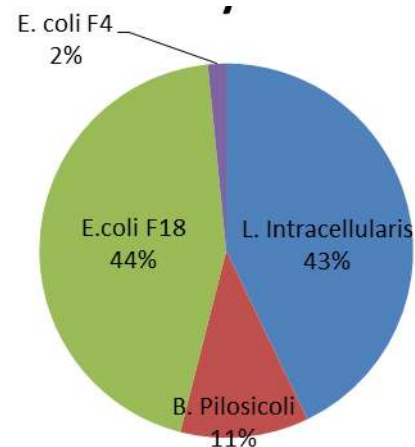
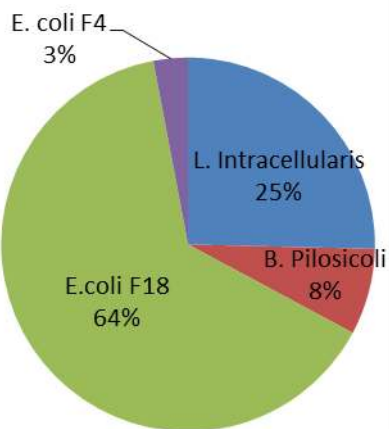
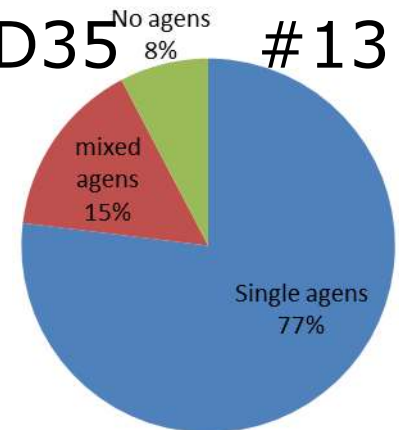
D21 #62



D28 #35



D35 #13



%diarre: 12%

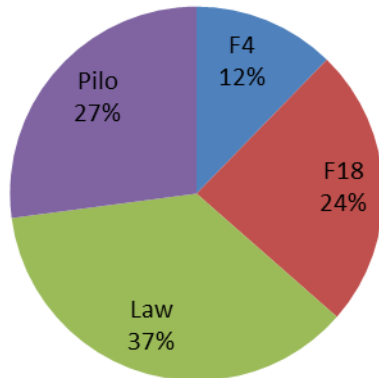
28%

26%

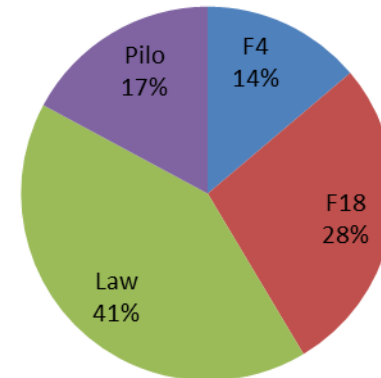
39%

Hvad finder DTU-Vet i diagnostikken?

Sokkeprøver DTU-VET 2015



Fæcesprøver DTU-VET 2015



Kilde: DTU-Vet, Årsrapport 2015



Behandling af diarre

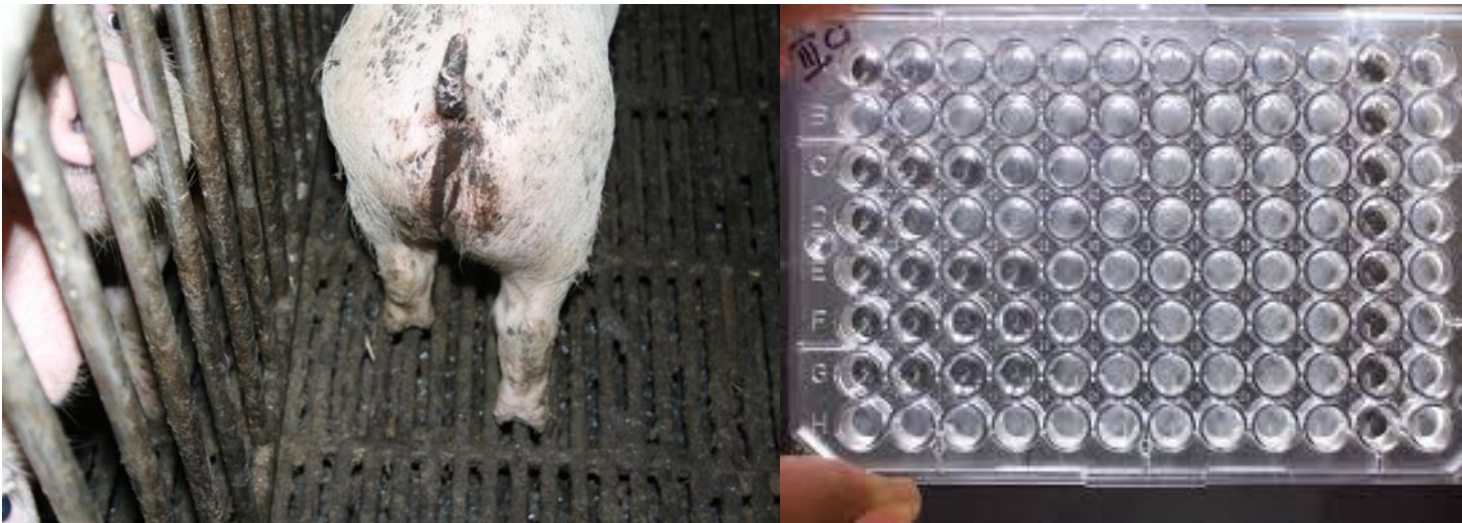
- Flokbehandling mest effektiv til behandling af *L. intracellularis* (Larsen *et al.* 2015, PVM)
- 5 dages oral Doxycyklin-behandling mere effektiv til reduktion af *L. intracellularis* udskillelse end Tylosin (Weber *et al.* 2016, Under review, PVM)
- Tidlig behandling med færrest grise med klinisk diarre gav størst daglig tilvækst (blandede infektioner) (Weber *et al.* 2016, Under review, PVM)





E. Coli Undersøgelse

- Fæcesprøver fra 93 diarregrise
- Fæcesprøver fra 31 stier med diarreprævalens >25%
- Laboratoriarbejde:
 - Dyrkning(Hæmolyse)
 - Toxin and fimbriae undersøgelse med PCR
 - F4, F5, F6, F18, F41, STa, STb, LT, VT2e
 - Resistensundersøgelse(alm. *E.coli* panel)



E. Coli Undersøgelse

Hvordan bliver prøver udtaget?

- 2-4 uger efter fravænning, >25% klinisk diarre
- 2 hæmolytiske og 2 non-hæmolytiske kolonier fra 3 diarregrise per sti
- 5 hæmolytiske og 5 non-hæmolytiske kolonier fra stibundsprøve
- Hvis flere stier blev undersøgt fra samme sektion blev der lavet en pooled stibundsprøve(sektionsprøve)

Isolater:

- 430 isolater, 101 fimbriae og toxin positive(kun F18) = ETEC
- 99/101 ETEC isolater hæmolytiske
- Fund af ETEC i diarregrise og stibund i 10 ud af 31 stier





Hvordan er sammenhæng mellem grise og stibund?

$p < 0.001$
Kappa=0.665



Dyrkning-gris

$P = 0.009$
Kappa=0.488

Dyrkning-sti



$P = 0.009$
Kappa=0.679

qPCR-sti



Konklusioner – *E. Coli* undersøgelse

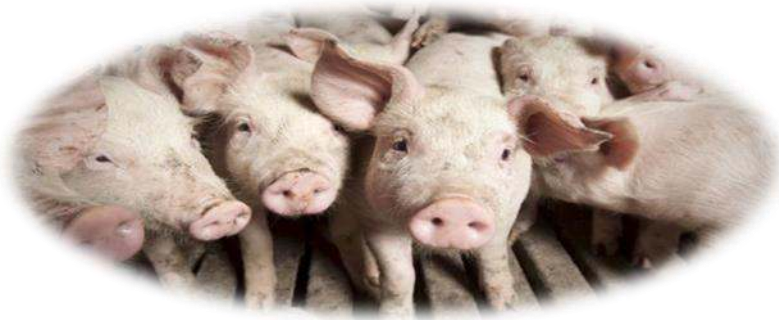
Kun F18 fimbriae fundet i de 3 forsøgsbesætninger

Samme type coli fundet i diarregrise og i stibund

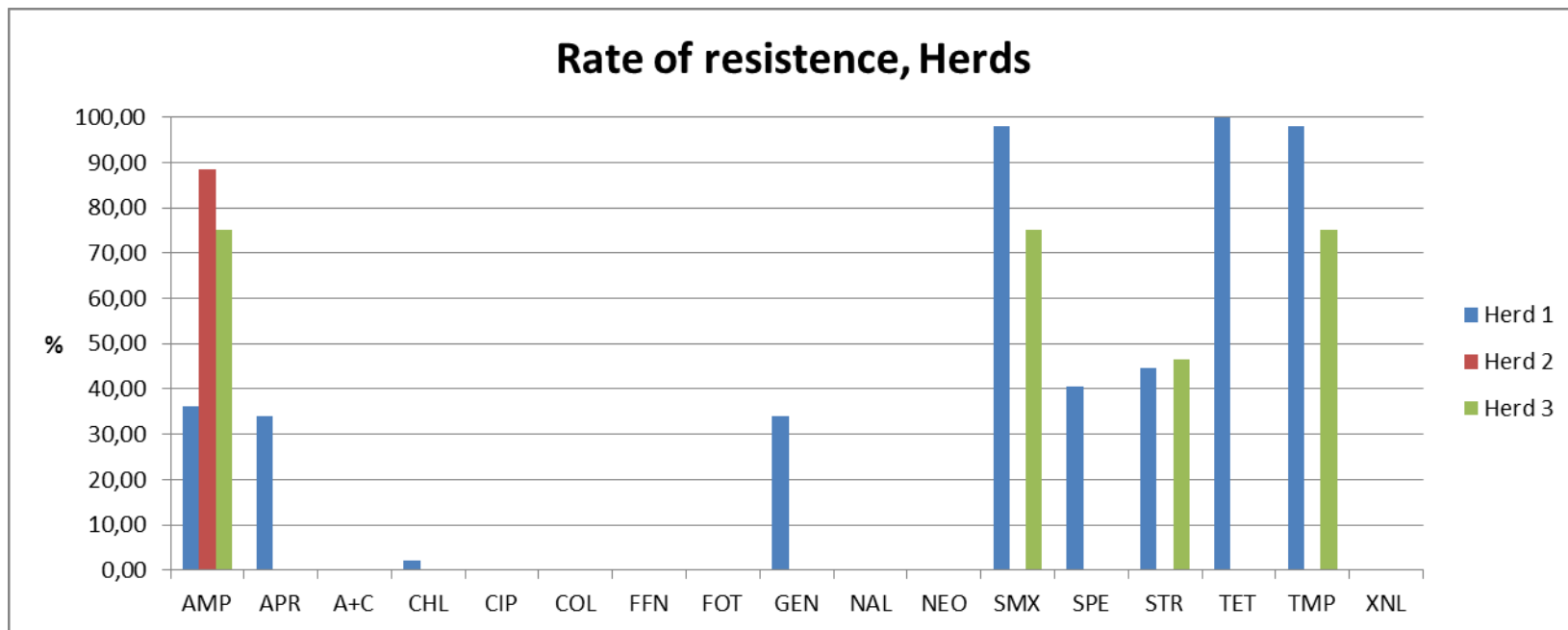
Stibunden kan bruges til at detektere F18 positive grise

Dyrkning fra stibund gav højeste kappa-værdi

Hvis der kan dyrkes ETEC i stibundsprøve bliver den fundet i qPCR



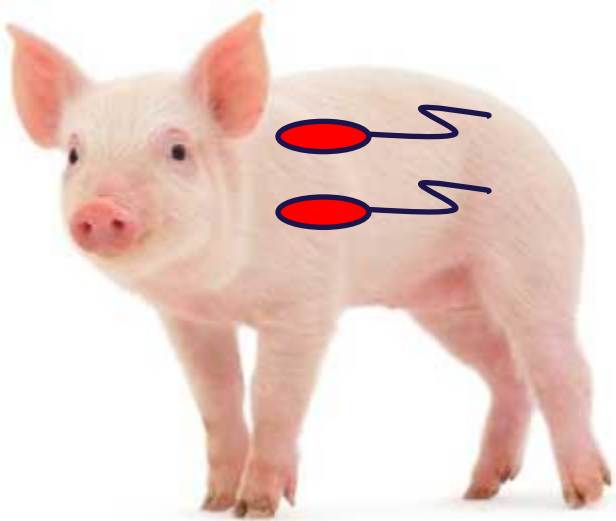
Resultater - Resistens



9.9% full sensitive



Resistens i isolater fra samme gris



Antimicrobial agent	Pig sample
Ampicillin	15/18
Apramycin	17/18
Gentamycin	17/18
Spectinomycin	16/18
Streptomycin	15/18
Sulphamethoxazole	17/18
Tetracycline	18/18
Trimethoprim	17/18

Resistens i isolater fra grise i samme sti



Antimicrobial agent	Agreement between pigs within pen
Ampicillin	6/7
Apramycin	7/7
Gentamycin	7/7
Spectinomycin	7/7
Streptomycin	6/7
Sulphamethoxazole	6/7
Tetracycline	7/7
Trimethoprim	6/7

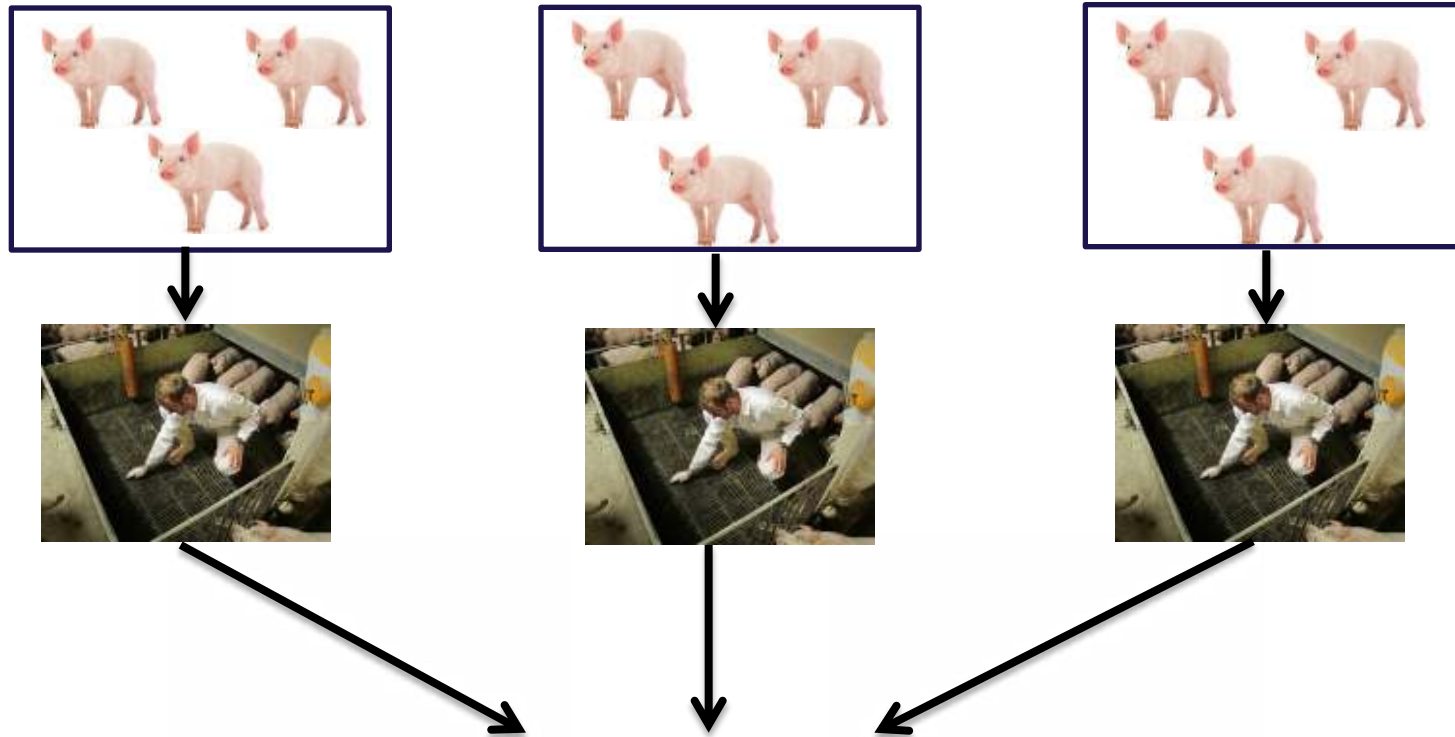


Sammenhæng mellem resistens i isolater fra grise og stibund



Antimicrobial class	Agreement between pig and pen floor isolates
Ampicillin	10/10
Apramycin	10/10
Gentamycin	10/10
Spectinomycin	9/10
Streptomycin	7/10
Sulphamethoxazole	10/10
Tetracycline	10/10
Trimethoprim	10/10





Pooled stibundsprøve = sektionsprøve

Sammenhæng mellem grise, stibund, sektion

Samme farve = samme resistensmønster



Pen Id	Pig isolates					Pen isolates					Section isolates				
1	Yellow	Green	Blue	Blue	Blue	Yellow	Green	Blue	Blue	Blue	Purple	Red	Red	Blue	
2	Blue	Blue				Brown	Green	Blue	Blue						
3	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Yellow	Blue	Blue	Blue						
4	Red	Red	Red	Red		Red	Red	Red	Red						
5	Red	Light Blue	Red			Red	Red	Red							
<hr/>															
6	Orange	Orange				Orange	Orange	Orange	Orange	Orange	Orange	Orange	Orange	Orange	
7	Orange	Orange	Orange	Orange		Orange	Orange	Orange							
<hr/>															
8	Purple	Purple	Green	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Purple		Green	Green	Green		
9	Green	Yellow	Purple	Purple		Purple	Purple	Purple							
10	Yellow					Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow					

Pen 1-5 = herd 1

Pen 6-7 = herd 2

Pen 8-10 = herd 3



Konklusioner resistens

- **Enkelt antibiotika:**
 - Besætningsafhængig
 - God overenstemmelse mellem
 - Isolater fra samme gris
 - Resistensstatus mellem grise fra samme sti
 - Resistensstatus mellem grise og stibund
- **Resistensprofiler:**
 - Meget besætningsafhængig
 - God overenstemmelse mellem grise og stibund
 - God overenstemmelse i 2/3 sektioner mellem grise og sektionsprøver



Perspektiver



Resistensundersøgelser af E. coli på sokkeprøver/fæcesprøver

Husdyrsygdomme Produktionsdyr

TIRSDAG 11 OKT 16 | Af Christian Gräs

DTU Veterinærinstituttet tilbyder resistensundersøgelser på sokke- og fæcesprøver fra grise, hvor der ved PCR-diarrepakke er påvist E. coli F4 eller E. coli F18.

PCR som kontrol

Det har vist sig, at der er gode muligheder for at påvise den dominerende E. coli

<http://www.vet.dtu.dk/Nyheder/Nyhed?id=ea6f7038-733a-4bb0-a20b-0244c0e24b4c>



Kontakt



**Sven Erik Lind
Jorsal**

Veterinærkonsulent
DTU
Veterinærinstituttet

35 88 61 87
selj@vet.dtu.dk