

APPENDIX 6

Project 8: prevalentieschatting en risicofactorenanalyse MRSA bij varkens

Projectleider

P. van der Wolf, GD

Projectteam

E.M. Broens, QVE-WUR en Clb-RIVM.
 E.A.M. Graat, QVE-WUR.
 M.C.M. de Jong, QVE-WUR
 M. Meijerink en laboratoriummedewerkers GD.
 I.V.F. van de Broek, B.A.G.L. van Cleef, X.W. Huijsdens
 en laboratoriummedewerkers Clb-RIVM.
 D.J. Mevius, CVI-WUR.
 R.A.A. van Oosterom en buitendienstmedewerkers VWA.

Samenwerking

Veehouders.
 GD-projectteam 'EU baseline studie'

Samenvatting

Een nieuwe kloon van meticilline-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA ST398) is in 2005 voor het eerst beschreven in varkens en mensen in contact met varkens. Verschillende studies rapporteren prevalenties van MRSA-positieve bedrijven en hebben risicofactoren voor mensen werkzaam op varkenshouderijen geïdentificeerd. Over risicofactoren voor varkensbedrijven om MRSA-positief te worden is echter nog weinig bekend. Het doel van deze studie was om een betrouwbare nationale prevalentie voor MRSA-positieve varkensbedrijven en voor personen woonachtig en/of werkzaam op die bedrijven te bepalen en om risicofactoren te identificeren en te kwantificeren. Gedurende 2007 en 2008 is een studie uitgevoerd op 202 varkensbedrijven, 171 bedrijven met zeugen en 31 bedrijven zonder zeugen. Op deze bedrijven werden random 60 varkens bemonsterd met behulp van een neusswab, gepoolde tot 10 monsters. Daarnaast werden 5 stofmonsters genomen verspreid over het bedrijf. Op de eerste 50 bedrijven werden ook de personen woonachtig en/of werkzaam op het bedrijf en de monsternemers bemonsterd (neusswab). Met behulp van een enquête werd informatie over bedrijfskenmerken (onder andere bedrijfsvoering, hygiëne, stalinrichting, toepassing van antibiotica) en voor de personen over hun activiteiten op het bedrijf verzameld. Microbiologische analyse werd gedaan op individuele humane monsters, individuele omgevingsmonsters en op gepoolde varkensmonsters (6 swabs per pool). Statistische analyse om risicofactoren te identificeren werd voor varkensbedrijven uitgevoerd op gegevens van 171 zeugenbedrijven en voor personen op gegevens van 232 personen. De prevalentie van MRSA-positieve personen was 14,2%;

er werden alleen MRSA-positieve personen gevonden op MRSA-positieve bedrijven. Op MRSA-positieve bedrijven nam de prevalentie van MRSA-positieve personen toe van 3% bij personen die geen contact hadden met varkens naar 49% bij personen die intensief contact hadden met varkens. Op bedrijven met zeugen was de MRSA-prevalentie onder personen hoger dan op bedrijven zonder zeugen. Monsternemers waren in 92% van de gevallen alleen kort na het bedrijfsbezoek MRSA-positief; slechts 1 monsternemer was gedurende een langere tijd MRSA-positief.

De prevalentie van MRSA-positieve varkensbedrijven in Nederland was 68,3%; van de bedrijven zonder zeugen (n=31) was 71,0% positief en van bedrijven met zeugen (n=171) was dat 67,8%. Op MRSA-positieve zeugenbedrijven was gemiddeld 63,3% van de pools en 33,8% van de stofmonsters MRSA-positief. In totaal zijn 18 verschillende *spa*-typen geïdentificeerd, waarvan t011 en t108 het meest frequent. Achttennegentig procent van de MRSA-isolaten behoorde tot ST398. Alle ST398-isolaten waren gevoelig voor mupirocin en linezolid en resistent tegen tetracycline. Resistentie tegen andere antibiotica varieerde binnen en tussen de verschillende *spa*-typen. In het statistische eindmodel voor risicofactoren voor varkensbedrijven bleven slechts twee factoren over: bedrijfsgrootte (aantal zeugen) en verloop in de tijd (maand). De prevalentie nam toe met de bedrijfsgrootte: kleine bedrijven (< 250 zeugen) waren in circa 40% van de gevallen MRSA-positief, oplopend tot meer dan 80% op grotere bedrijven (> 500 zeugen). Daarnaast nam het percentage positieve bedrijven toe in de tijd: van circa 30% in begin 2007 tot circa 75% eind 2008. Andere risicofactoren, zoals de aanwezigheid van vleesvarkens, de aanvoer van gelten of de hygiënescore, vielen uit het statistische model, maar waren alle geassocieerd met bedrijfsgrootte. De toepassing van antibiotica was niet significant geassocieerd met een hogere prevalentie, maar was wel geassocieerd met de bedrijfsgrootte. Bedrijven die preventief antibioticum toepassen in koppels zijn gemiddeld groter (486 zeugen) dan bedrijven die antibiotica curatief toepassen (415 zeugen) en veel groter dan bedrijven die geen antibioticum toepassen (355 zeugen).

Concluderend kan gezegd worden dat MRSA op een groot aantal zeugenbedrijven in Nederland voorkomt en dat de prevalentie in de tijd stijgt. Grote bedrijven hebben een verhoogd risico, wat verklaard kan worden door de bedrijfsgrootte zelf en door factoren die geassocieerd zijn met de bedrijfsgrootte, zoals de toepassing van antibiotica (verdeeld in preventief, curatief of geen), de aanvoer van gelten (ja of nee) en de ongediertebestrijding

(professioneel uitbesteed of zelf). De factor bedrijfsgrootte is hiermee een verzameling van allerlei (risico)factoren waardoor grotere bedrijven vaker MRSA-positief zijn, maar er kan niet worden aangeduid hoeveel deze factoren afzonderlijk bijdragen aan de kans op positief zijn. Personen die intensief contact hebben met MRSA-positieve varkens hebben een sterk verhoogd risico om MRSA-positief te zijn.

Summary

In 2005 a distinct clone of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA ST398) was found in pigs and people in contact with pigs. Several studies report prevalences of MRSA-positive farms and identified risk factors for people working with pigs. Little is known on risk factors associated with MRSA on pig farms. The objective of this study was to estimate a reliable prevalence for MRSA-positive farms and for people working and/or living on these farms and to identify and quantify risk factors.

During 2007 and 2008 a study on 202 pig farms, 171 farms with sows and 31 farms without sows, was performed. On these farms a nasal swab was taken from 60, randomly selected, pigs. Additionally, 5 environmental samples were taken. On the first 50 farms, the people working and/or living on the farms and the sample takers were sampled (nasal swab) as well. Information was gathered on farm characteristics (e.g. management, hygiene and antimicrobial use) and for people on their activities at the farm. Microbiological analysis was done on individual human samples, individual environmental samples and pooled pig samples (6 swabs per pool). Statistical analysis to identify risk factors was done on data from 171 sow-farms and on data from 232 persons. The prevalence of MRSA-positive persons was 14.2%; MRSA-positive persons were only found on MRSA-positive farms. The human prevalence on MRSA-positive farms increased from 3% in people with no contact with pigs to 49% in people with intensive contact with pigs. The human prevalence was higher on farms with sows than on farms without sows. Sample takers were in 92% short-term carriers of MRSA; only 1 sample taker was MRSA-positive during a longer period.

The overall prevalence of MRSA-positive farms was 68.3%; for farms without sows the prevalence was 71.0% and for sow-farms the prevalence was 67.8%. On MRSA-positive sow-farms, on average 63.3% of the pools and 33.8% of the environmental samples was MRSA-positive. In total, 18 different *spa* types were identified, t011 and t108 being the most frequent ones. Ninety-eight percent of the MRSA-isolates belonged to ST398. All ST398-isolates were sensitive to mupirocin and linezolid and resistant to tetracycline. Resistance to other antimicrobials varied between and within *spa*-types.

In the final statistical model for risk factors for pig farms only two factors were associated with MRSA on a farm: herd size (number of sows) and time (months). The prevalence of MRSA-positive farms increased when the

number of sows on a farm increased: approximately 40% of the small herds (< 250 sows) was MRSA-positive versus > 80% of the larger herds (> 500 sows). The prevalence of MRSA-positive farms increased in time as well: from approximately 30% at the beginning of 2007 to approximately 75% at the end of 2008. Other risk factors, e.g. presence of finishing pigs, purchase of gilts or hygiene, dropped out of the statistical model but were associated with herd size. Antimicrobial use and MRSA on a farm were not significant associated, though antimicrobial use was associated with herd size. Farms that apply antimicrobials as group medication have more sows (486 sows) than farms that use antimicrobials just in case of disease (415 sows) and much more sows than farms that use no antimicrobials at all (355 sows). In conclusion, MRSA is present on a large number of Dutch sow-farms and the prevalence increases in time. Large herds have a higher risk, which can be explained by herd size itself and by the factors that are associated with herd size, e.g. antimicrobial use, the purchase of gilts and rodent control. Herd size is a reservoir of several risk factors, which makes that larger farms are more often MRSA-positive. Persons who have intensive contact with MRSA-positive pigs have a higher risk of being MRSA-positive.

Inleiding

In Nederland zijn in 2005 de eerste humane gevallen beschreven van MRSA die gerelateerd waren aan contact met varkens [1]. Het bleek te gaan om een specifieke kloon, die niet typeerbaar was met de in Nederland gebruikte standaardmethode (Pulsed Field Gel Electroforese) [2]. Ook in andere landen wordt deze kloon gevonden in varkens [3-5]. Daarnaast blijkt deze kloon ook bij andere diersoorten en in vlees gevonden te worden [6-8]. Alle isolaten behoren tot hetzelfde Multi Locus Sequence Type (MLST), en daarom wordt veelal de term MRSA ST398 gehanteerd [9].

Verscheidene studies rapporteren prevalenties van MRSA-positieve bedrijven, variërend van 23 tot 56%, en hebben risicofactoren voor mensen werkzaam op varkenshouderijen geïdentificeerd [10, 11]. Deze studies waren echter van beperkte omvang voor een betrouwbare prevalentieschatting. Om transmissie van varkens naar mensen te beperken, is bestrijding op varkensbedrijven een belangrijke factor. Over risicofactoren voor varkensbedrijven om MRSA-positief te worden is echter nog weinig bekend. De aankoop van dieren van MRSA-positieve bedrijven lijkt een belangrijke risicofactor te zijn [10, 12] en de toepassing van antibiotica wordt vaak gesuggereerd als risicofactor [10, 13] maar gegevens om deze suggesties te kwantificeren ontbreken tot nu toe. Het doel van deze studie is om een betrouwbare nationale prevalentie voor MRSA-positieve varkensbedrijven en voor personen woonachtig en/of werkzaam op die bedrijven te bepalen en om risicofactoren te identificeren en te kwantificeren.

Materiaal en methoden

Opzet van de studie

Gedurende 2007 en 2008 is een studie uitgevoerd. In 2007 werden 50 varkensbedrijven random geselecteerd van een lijst van alle geregistreerde varkensbedrijven in Nederland. De coördinatie en monsteranalyse vond plaats bij het RIVM, de monstername werd gedaan door VWA-medewerkers. Op deze bedrijven werden random 60 varkens bemonsterd met behulp van een neusswab (Medical Wire and Equipment, MW102, UK). Met deze steekproefgrootte is het mogelijk om MRSA op een bedrijf aan te tonen als de binnenbedrijfsprevalentie minimaal 5% is. Daarnaast werden vijf stofmonsters (Sodibox, s1 kit ringer solution, Frankrijk) genomen verspreid over het bedrijf. Met behulp van een enquête werd informatie over onder andere bedrijfsvoering, hygiëne, stalinrichting en de toepassing van antibiotica verzameld. Per bemonsterde leeftijdsgroep werd informatie verzameld over de toegepaste antibiotica, de toedieningswijze en de reden van behandeling, waarbij een opsplitsing werd gemaakt in (1) 'standaard' (= preventief toegepaste medicatie op vaste momenten (bijvoorbeeld rondom ingrepen en verplaatsingen), vaak voorgeschreven voor een gehele groep), (2) 'incidenteel' (= incidentele, curatieve toepassing van antibiotica voorgeschreven aan individuele dieren en/of een gehele groep) en (3) 'geen antibiotica'. Op deze 50 bedrijven werden ook monsters genomen van de mensen woonachtig en werkzaam op het bedrijf. Varkenshouders, gezinsleden en medewerkers werden bemonsterd met behulp van een neusswab en kregen een vragenlijst over hun activiteiten in het bedrijf en andere gedragsfactoren.¹ De monsternemers van de VWA namen vlak voor, direct na en de dag na het bedrijfsbezoek bij zichzelf een neusswab. Over de humane data is in 2009 een wetenschappelijk artikel verschenen [11]. In 2008 is de coördinatie, monstername en monsteranalyse overgedragen aan de GD. Drie beweegredenen hebben ertoe geleid dat in 2008 alleen zeugenbedrijven werden geselecteerd voor de studie, namelijk: (1) uit voorlopige gegevens van de ketenstudie (project 12 LNV-programma) bleek dat aankoop van dieren een belangrijke risicofactor is voor vleesvarkensbedrijven om MRSA-positief te zijn, (2) de bedrijfsstructuur van bedrijven met en zonder zeugen is zodanig verschillend dat een analyse op een set gegevens afkomstig van beide soorten bedrijven moeilijk zou worden en afzonderlijke analyse zou leiden tot te kleine datasets om betrouwbare uitspraken te kunnen doen, en (3) er kon een koppeling gemaakt worden met de EU-baselinestudie naar *Salmonella* en MRSA op zeugenbedrijven.

In 2008 zijn in totaal 152 zeugenbedrijven bezocht van een random selectie van een lijst van alle geregistreerde varkensbedrijven in Nederland. Monstername op de

bedrijven was identiek aan die in 2007; er zijn op deze bedrijven geen humane monsters verzameld.

In 2007 en 2008 zijn in totaal 202 varkensbedrijven bemonsterd. Volgens indeling van de Verordening Varkensleveringen 2006 (PVV) zijn deze onder te verdelen in 80 A-bedrijven, 91 B-bedrijven, 2 C-bedrijven en 29 D-bedrijven. De 171 bemonsterde zeugenbedrijven (categorie A en B) vertegenwoordigen 5,2% (171/3289²) van het totaal aantal zeugenbedrijven in Nederland. Voor A-bedrijven ligt het aandeel in deze studie hoger dan voor B-bedrijven, respectievelijk 18% (80/449) en 3% (91/2840). De verdeling van de 171 bedrijven over de provincies van Nederland was conform de verdeling van alle varkensbedrijven over de provincies en is weergegeven in Tabel A6.4. Het gemiddeld aantal zeugen per bedrijf was 431 (mediaan = 320; Q1-Q3=220-500; range 24-2100).

Om de resultaten van de microbiologische analyse van het laboratorium van het RIVM en dat van de GD met elkaar te vergelijken, werden 8 MRSA-positieve bedrijven uit de studie in 2009 opnieuw benaderd en bemonsterd. Hiertoe werden op ieder van deze bedrijven bij 60 dieren 2 neusswabs tegelijk afgenomen en werden 2 maal 5 stofmonsters genomen van aangrenzende oppervlakten. Ieder monster kreeg een volgnummer met erachter een A of een B en werd respectievelijk naar het laboratorium van het RIVM (A) of de GD (B) vervoerd. Daar werden de swabs in pools van 6 en de stofmonsters individueel onderzocht. De gebruikte kweekmethode was in beide laboratoria identiek (hieronder beschreven).

Microbiologische analyse

Microbiologische analyse werd gedaan op individuele neusswabs van personen, individuele omgevingsmonsters en op gepoolde diermonsters (6 swabs per pool). Elke pool bevatte swabs van dieren uit één afdeling en één leeftijdsgroep (kraambiggen, speenbiggen, opfok, vleesvarkens, zeugen). Het bacteriologisch onderzoek bestond uit twee achtereenvolgende selectieve ophopingsstappen, waarna gekweekt werd op een MRSA-selectieve plaat (MRSA screen, Oxoid, UK). Verdachte kolonies werden bevestigd met behulp van een multiplex PCR [13]. Isolaten werden verder getypeerd met behulp van *spa*-typering op het RIVM [14]. Van de dier- en omgevingsmonsters werd een antibioticumgevoeligheidsbepaling gedaan van minstens 1 isolaat per bedrijf³ op het CVI. Isolaten werden getest op hun gevoeligheid voor erythromycine, clindamycine, rifampicine, fusidinezuur, gentamicine, amikacine, neomycine, ciprofloxacine, tetracycline, mupirocin en linezolid. De humane isolaten werden op hun

² gebaseerd op gegevens van de GD, 4e kwartaal 2008

³ Bij aanvang van de studie werd van alle MRSA-isolaten een antibioticumgevoeligheidsbepaling gedaan, maar halverwege de studie is dit aantal, vanwege budgettaire redenen, teruggebracht naar 1 isolaat per bedrijf.

¹ de vragenlijst is in te zien op de websites van Cib (www.rivm.nl/cib/mrsa) en LNV (www.minlnv.nl (zie onder publicaties))

gevoeligheid voor 21 verschillende antibiotica getest met het VITEK systeem (bioMérieux SA, Craaponne, France). In de rapportage zijn uitslagen van spa-typeringen van veterinaire monsters van twee bedrijven (13 isolaten) en de gegevens van de antibioticumgevoeligheid van veterinaire isolaten van 13 bedrijven (1 isolaat per bedrijf) niet meegenomen, omdat deze nog niet bekend waren ten tijde van de statistische analyse.

Statistische analyse

Humaan

In totaal werden 232 personen afkomstig van 50 bedrijven bemonsterd (50 varkenshouders, 171 gezinsleden en 11 medewerkers). Informatie uit de ingevulde vragenlijst en uit de bedrijfsenquête werd gebruikt om variabelen te definiëren voor de statistische analyse.

De associatie tussen uitslagen en *spa*-typen van humane en veterinaire monsters werd getest met behulp van een chi-kwadraattoets. Potentiële risicofactoren voor MRSA in personen werden geïdentificeerd met behulp van een univariate logistische regressieanalyse in SAS, versie 9.1 (Proc Logistic) [15, 16]. De sterkte van de associatie tussen een variabele en de aanwezigheid van MRSA in personen is weergegeven in Odds Ratios [17]. Alle variabelen met een P-waarde < 0,2 (gebaseerd op -2 log likelihood) werden meegenomen in het multivariate model, waarbij een voorwaarde eliminatieprocedure werd toegepast. Vervolgens werden interacties tussen overgebleven variabelen getest. Omdat humane monsters afkomstig van één bedrijf meer op elkaar lijken dan humane monsters afkomstig van verschillende bedrijven is in de analyse een random bedrijfseffect meegenomen om hiervoor te corrigeren.

Veterinair

Een bedrijf werd als positief aangemerkt als minstens 1 van de stof- of poolmonsters positief op MRSA werd getest. Informatie uit de bedrijfsenquête werd gebruikt om variabelen te definiëren voor de statistische analyse (Tabel A6.1 en A6.2). Gezien de aandacht voor antibioticumtoepassing als risicofactor voor aanwezigheid van MRSA, is deze variabele op verschillende manieren geïdentificeerd en meegenomen in de analyse (Tabel A6.3). In model a werd 'geen toepassing van antibiotica' vergeleken met 'wel toepassing van antibiotica'. In model b werd de toepassing van antibiotica gesplitst in 'incidentele toepassing' en 'standaardtoepassing'. Onder 'incidentele toepassing' werd hier verstaan, de curatieve toepassing van antibiotica bij een deel van de dieren. Terwijl met 'standaardtoepassing' preventief toegepaste groepsmedicatie bedoeld werd. In model c-e werden de 'risico-antibiotica' apart geanalyseerd. Tetracyclinen en bèta-lactam-antibiotica werden als risico-antibiotica gedefinieerd, aangezien MRSA ST398 100% resistent is tegen deze beide groepen antibiotica. Aangezien de gegevens over doseringen en duur van de behandeling op veel bedrijven onvolledig waren, was een analyse gebaseerd op dagdoseringen niet mogelijk.

Analyse werd uitgevoerd op 171 zeugenbedrijven; de 31 bedrijven zonder zeugen zijn niet meegenomen, gezien de afwijkende bedrijfsstructuur en daardoor ook mogelijk andere risicofactoren. Vervolgens is analyse gedaan op poolniveau, waarbij 1699 poolmonsters afkomstig van 170 zeugenbedrijven (op 1 bedrijf ontbraken de herkomstgegevens van de pool- en stofmonsters en op 1 bedrijf mist 1 monster). Deze analyse maakt het mogelijk om bepaalde variabelen die alleen van toepassing zijn op bepaalde leeftijdsgroepen specifiek te analyseren voor die betreffende leeftijdsgroep.

Potentiële risicofactoren voor MRSA op bedrijfs- en poolniveau werden geïdentificeerd met behulp van een univariate logistische regressie analyse in SAS, versie 9.1 (Proc Logistic) [15, 16]. De sterkte van de associatie tussen een variabele en de aanwezigheid van MRSA is weergegeven in Odds Ratios [17]. Alle variabelen met een P-waarde < 0,25 (gebaseerd op -2 log likelihood) werden meegenomen in het multivariate model. De variabelen 'bedrijfs-grootte' (per zeug) en 'verloop in de tijd' (per maand) zijn variabelen op een continue schaal. Van de variabelen is de lineariteit van de logits beoordeeld, waarna beide als continue variabelen meegenomen zijn in het multivariate model [16]. Vervolgens werd in dit multivariate model een achterwaartse eliminatieprocedure uitgevoerd volgens de methode beschreven door Hosmer en Lemeshow [16]. Daarbij wordt telkens de minst significante variabele uit het model verwijderd, tot er enkel variabelen overblijven met een P-waarde < 0,05 of variabelen die confounders zijn. Vervolgens werden interacties tussen overgebleven variabelen getest. Omdat poolmonsters afkomstig van één bedrijf meer op elkaar lijken dan poolmonsters afkomstig van verschillende bedrijven is in de analyse een random bedrijfseffect meegenomen om hiervoor te corrigeren (Proc Glimmix, SAS, versie 9.1).

Tabel A6.1 Variabelen van bedrijfsgegevens afgeleid van de enquête, met het aantal bedrijven en de bedrijfs- en poolprevalentie voor MRSA per categorie (n=171 bedrijven; n=1699 poolmonsters)

Variabele	frequentie (n)	bedrijfsprevalentie (%)	poolprevalentie (%)
periode (2007-1; 2007-2; 2008-1; 2008-2) ¹	16;5;91;59	37,5;40,0;71,4;72,9	25,6; 25,0; 44,4; 46,5
seizoen (lente, zomer, herfst, winter)	71; 42; 32; 26	74,7; 64,3; 75,0; 46,2	48,2; 45,7; 43,4; 23,6
varkensdichtheid regio (≤ 17 ; > 17 varkens/ha)	88; 83	60,2; 75,9	39,9; 46,2
bedrijfstype (A;B)	80; 91	76,3; 60,4	51,1; 35,8
aanvoer van gelten (ja; nee)	98; 73	66,3; 69,9	38,5; 48,9
aantal zeugen (<250; 250-600; > 600)¹	59; 79; 33	49,2; 73,4; 87,9	24,3; 48,2; 63,6
aanwezigheid van vleesvarkens (<100; > 100)	108; 63	71,3; 61,9	44,8; 39,8
aanwezigheid van andere dieren (ja;nee)	136;35	64,7; 80,0	38,9; 58,9
melkvee (gem. 56.7, range 1-160, mediaan 40)	18;153	38,9; 71,2	
vleesvee (gem. 19.1, range 1-60, mediaan 6.5)	9; 162	100,0; 66,1	
pluimvee (gem. 1988.7, range, 1-50000, mediaan 8)	26; 145	71,0; 71,2	
schapen (gem. 31.2, range 2-200, mediaan 15)	25; 146	68,0; 67,8	
geiten (gem. 5.1, range 1-30, mediaan 2)	10; 161	90,0; 66,5	
paarden (gem. 5.4, range 1-80, mediaan 3)	44; 127	68,2; 67,7	
honden/katten (gem. 2.4, range 1-11, mediaan 2)	109; 62	65,1; 72,6	
hygiëne score (laag; gemiddeld; hoog)²	30; 98; 43	53,3; 69,4; 74,4	33,3; 42,6; 50,6
reiniging en desinfectie (desinfectie; inweken; schoonspuiten; geen) ⁴	90; 11; 61; 9	71,1; 63,6; 65,6; 55,6	44,9; 44,7; 39,5; 28,1
gebruik van desinfectiemiddelen (ja; nee) ³	90; 80	71,1; 63,8	44,0; 41,4
ongediertebestrijding (zelf; professioneel)	100; 71	65,0; 71,8	40,4; 46,5
vliegenbestrijding (ja; nee)	146; 25	71,2; 48,0	46,4; 22,8
aparte stallen voor leeftijdsgroepen (ja; nee) ³	115; 56	67,8; 67,9	41,2; 44,8
aparte kleding voor leeftijdsgroepen (ja; nee) ³	23; 148	69,6; 67,6	47,8; 42,2
apart gereedschap voor leeftijdsgroepen (ja; nee) ³	78; 93	73,1; 63,4	47,5; 39,1
huisvesting zeugen (ind; kleine groepen; grote groepen)	113; 33; 25	68,1; 66,7; 68,0	39,1; 47,1; 35,6 ⁵
wassen kraamzeugen (ja; nee)	122; 49	69,7; 63,3	41,2; 30,6 ⁵
overleggen van pasgeboren biggen (<24 hr; > 24 hr; beiden) ⁴	96; 56; 19	66,7; 69,6; 68,4	51,8; 54,7; 58,3 ⁵
groepsgrootte gespeende biggen (1-15; >15; geen gespeende biggen)	110; 59; 2	63,6; 76,3; 50,0	48,0; 63,9; - ⁵
groepsgrootte vleesvarkens (≤ 10 ; > 10 ; geen vleesvarkens)	120; 22; 29	70,8; 59,1; 62,1	28,6; 37,9 ⁵
vlotterton in drinkwatersysteem (ja; nee)³	78; 93	60,3; 74,2	47,9; 37,1
voersysteem vleesvarkens (brij; droogvoer; trog; geen vleesvarkens)	46; 58; 20; 29	71,7; 63,8; 70,0; 62,1	47,9; 37,4; 57,0; 34,1 ⁵
voeren van bijproducten aan vleesvarkens (ja; nee; geen vleesvarkens)	35; 107; 29	68,6; 69,2; 62,1	53,7; 41,8; 34,1 ⁵
aanzuren water bij vleesvarkens (ja; nee; geen vleesvarkens)	16; 126; 29	75,0; 68,3; 62,1	56,; 43,2; 34,1 ⁵

dikgedrukte variabelen hadden een P-waarde < 0,25 in de univariate analyse op bedrijfs- en poolniveau

cursief weergegeven variabelen hadden een P-waarde < 0,25 in de univariate analyse op poolniveau

¹ variabelen zijn als continue variabele meegenomen in het multivariate model (zie Figuur 2 en 3)

² variabele is hier in 3 klassen ingedeeld: laag (≤ 3 hygiënemaatregelen), gemiddeld (4 of 5 hygiënemaatregelen) of hoog (≥ 6 hygiënemaatregelen); gescordeerde hygiënemaatregelen: gebruik van douche, gebruik van water en zeep, aparte in- en uitgang hygiënesluis, gebruik desinfectiebak, gebruik hygiënesluis door veehouder zelf, aparte kleding en gereedschap per leeftijdsgroep

³ variabelen zijn hier voor alle leeftijdsgroepen gezamenlijk gepresenteerd; analyse van effect per leeftijdsgroep is ook uitgevoerd

⁴ er waren geen bedrijven die pasgeboren biggen niet overleggen

⁵ prevalenties zijn gebaseerd op pools van de betreffende leeftijdsgroep

Tabel A6.2 Aantal pools, poolprevalentie voor MRSA en antibioticumtoepassing per leeftijdsgroep (totaal 1699 poolmonsters, afkomstig van 170 bedrijven)

leeftijdsgroep	frequentie (n)	poolprevalentie (%)	std abtoepassing (%)	std risico-ab (%)
zeugen	737	38,3	29,3	15,3
kraambiggen	322	53,4	65,5	56,2
speenbiggen	382	52,9	53,7	29,3
opfok	147	23,8	8,8	3,4
vleesvarkens	111	38,7	21,6	6,3

std = preventief toegepaste medicatie, vaak voorgeschreven voor een gehele groep/afdeling; ab=antibiotica; risico-ab = bèta-lactam antibiotica en/of tetracyclinen

Tabel A6.3 Verschillende indelingen van antibioticumtoepassing zoals gebruikt in de multivariate statistische analyse op poolniveau

model	klassen (n)	indeling van antibioticumtoepassing	poolprevalentie
a	2	wel; geen ab	45,5; 32,6
b	3	std ; inc ; geen ab	51,0; 40,5; 32,6
c	5	std risico-ab ; inc risico-ab; std overig; inc overig; geen ab	55,5; 42,3; 39,5; 34,4; 32,6
d	3	std risico-ab; overig ab; geen ab	55,5; 41,3; 32,6
e	3	risico-ab; overig ab; geen ab	46,9; 37,2; 36,2

std = preventief toegepaste medicatie, vaak voorgeschreven voor een gehele groep/afdeling) ; inc = incidentele, curatieve toepassing van antibiotica; ab = antibiotica; risico-ab = bèta-lactam antibiotica en/of tetracyclinen

Tabel A6.4 Aantal bedrijven, gemiddelde bedrijfsgrootte, bedrijfs- en poolprevalentie voor MRSA, het totaal aantal isolaten en het aantal en percentage van meestvoorkomende en overige spa-typen per provincie

provincie ¹	aantal bedrijven	gemiddelde bedrijfsgrootte	bedrijfsprevalentie (%)	poolprevalentie (%)	totaal aantal isolaten	t011		t108		t1457		overige spa-typen	
						n	%	n	%	n	%	n	%
Drenthe	4	342	0,0	0,0	0	0	-	0	-	0	-	0	-
Flevoland	2	350	0,0	0,0	0	0	-	0	-	0	-	0	-
Friesland	2	345	100,0	50,0	11	6	54,6	0	-	0	-	5	45,4
Gelderland	30	447	76,7	52,0	202	82	40,6	92	45,5	2	1,0	26	12,9
Groningen	4	245	25,0	15,0	8	0	-	0	-	8	100,0	0	-
Limburg	24	580	79,2	48,8	150	117	78,0	28	18,7	0	-	5	3,3
Noord-Brabant	63	428	73,0	44,7	345	139	40,3	162	47,0	1	0,3	43	12,4
Noord-Holland	1	220	0,0	0,0	0	0	-	0	-	0	-	0	-
Overijssel	28	384	60,7	38,9	134	79	58,9	26	19,4	25	18,7	4	3,0
Utrecht	12	388	66,7	45,8	74	62	83,8	7	9,5	0	-	5	6,7
Zeeland	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Zuid-Holland	1	100	0,0	0,0	0	0	-	0	-	0	-	0	-
Totaal	171	431 ²	67,8	43,0	924	485	52,5	315	34,1	36	3,9	88	9,5

¹in de analyse zijn de provincies niet als variabele meegenomen, de regio-indeling naar varkensdichtheid had de voorkeur

²mediaan = 320; Q1-Q3=220-500; range 24-2100

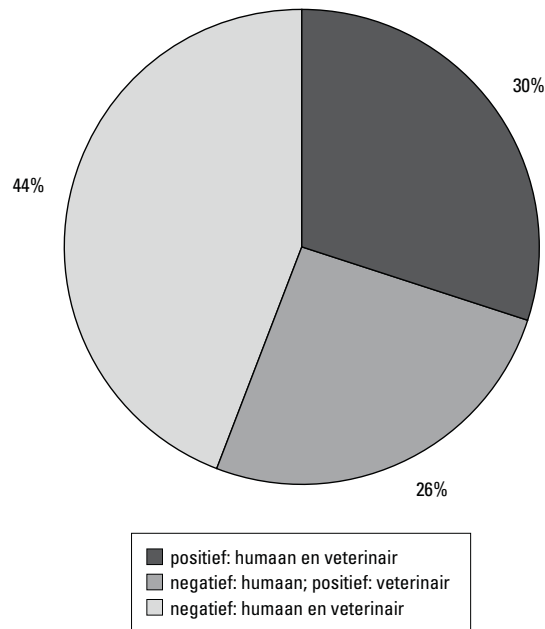
Resultaten

Beschrijvende statistiek

Prevalenties

Humaan

MRSA werd gevonden in 14% (33/232) van de bemonsterde personen en alleen op bedrijven waar ook MRSA werd gevonden in stof- en/of poolmonsters (Figuur A6.1).



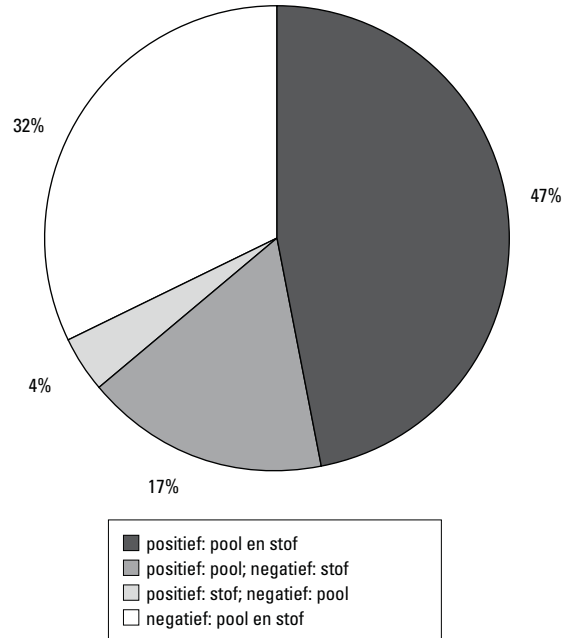
Figuur A6.1 Prevalentie van MRSA in humane en/of veterinaire monsters per varkensbedrijf (totaal 50 bedrijven)

Dertien van de 32 monsternemers van de VWA testten MRSA-positief op één of meerdere momenten. Tien monsternemers testten MRSA-positief direct na het bedrijfsbezoek en negatief de volgende dag. Drie monsternemers waren de volgende dag nog steeds MRSA-positief, waarvan twee negatief testten op een later moment. De derde was ook al MRSA-positief voor het bedrijfsbezoek met een *spa*-type dat niet correspondeerde met de gevonden *spa*-typen op de door hem bezochte bedrijven.

Veterinair

Totaal aantal bedrijven (n=202)

Van het totaal aantal bedrijven waren 138 bedrijven MRSA-positief (68,3%; 95% btbhi 61,4-74,7%; Figuur A6.2). Per positief bedrijf was gemiddeld 61,8% (mediaan 70; Q1-Q3 40-80) van de poolmonsters en 37,5% (mediaan 40; Q1-Q3 20-60) van de stofmonsters positief. Van de positieve bedrijven was 69,6% positief op basis van pool- en stofmonsters, 24,6% op basis van alleen poolmonsters en 5,8% op basis van alleen stofmonsters.



Figuur A6.2 Bedrijfsuitslag voor MRSA van 202 varkensbedrijven gebaseerd op pool- en/of stofmonsters

Bedrijven zonder zeugen (n=31)

Van de bedrijven zonder zeugen (29 vleesvarkens- en 2 opfokbedrijven) waren 22 bedrijven MRSA-positief (71%; 95% btbhi: 52,0-85,8%). Per positief bedrijf was gemiddeld 53,6% (mediaan 55; Q1-Q3 20-90) van de poolmonsters en 57,3% (mediaan 60; Q1-Q3 20-100) van de stofmonsters positief. Van de positieve bedrijven was 68,2% positief op basis van pool- en stofmonsters, 13,6% op basis van alleen poolmonsters en 18,2% op basis van alleen stofmonsters.

Zeugenbedrijven (n=171)

Van de zeugenbedrijven waren 116 bedrijven MRSA-positief (67,8%; 95% btbhi: 60,3-74,8%). Per positief bedrijf was gemiddeld 63,3% (mediaan 70%; Q1-Q3=50-80%) van de poolmonsters en 33,8% (mediaan 20%; Q1-Q3=20-80%) van de stofmonsters positief. Van de positieve bedrijven was 69,8% positief op basis van pool- en stofmonsters, 26,7% op basis van alleen poolmonsters en 3,5% op basis van alleen stofmonsters. A-bedrijven (n=80) waren vaker MRSA-positief (76,3%) dan b-bedrijven (n=91; 60,4% MRSA-positief). Bedrijven die naast zeugen meer dan 100 vleesvarkens hadden (n=63) waren minder vaak MRSA-positief (61,9%) dan bedrijven die naast zeugen minder dan 100 vleesvarkens hadden (n=108; 71,3% MRSA-positief) (Tabel A6.1).

Spa-typering

Humaan

Van alle 33 positieve isolaten is een *spa*-typering bekend. Er werden 7 verschillende *spa*-typen gevonden, alle

behorend tot ST398. *Spa*-typen t011 (15), t567 (7) en t108 (5) werden het meest frequent gevonden. Andere *spa*-typen waren t899 (2), t2330 (2), t2741 (1) en t588 (1). In 30/33 personen kwam het *spa*-type overeen met de *spa*-typen die gevonden werden in omgevings- en/of poolmonsters afkomstig van het bedrijf. De overige drie personen droegen *spa*-typen bij zich die niet op het bedrijf werden geïsoleerd. Dit betrof twee medewerkers van één bedrijf waar naast varkens ook schapen en paarden werden gehuisvest en een gezinslid, ouder van een kind dat in het verleden MRSA-positief was getest (*spa*-type onbekend).

Veterinair

Van totaal 924 monsters, afkomstig van 114 MRSA-positieve zeugenbedrijven, is een *spa*-typering bekend. Er zijn 18 verschillende *spa*-typen gevonden, waarvan 16 typen (88,9%) behoren tot ST398 (Tabel A6.5). De andere 2 *spa*-typen, t002 (ST5) en t127 (ST1), werden respectievelijk op 1 en 2 bedrijven gevonden, als enige type op die bedrijven. *Spa*-typen t011 en t108 kwamen het meest frequent voor, respectievelijk 52,5% en 34,1%. Op 83 bedrijven (73% van de MRSA-positieve bedrijven) werd slechts 1 *spa*-type gevonden, op 23 bedrijven (20%) werden 2 *spa*-typen gevonden en op 8 bedrijven (7%) kwamen 3 *spa*-typen tegelijkertijd voor.

Spa-type t011 had de hoogste prevalentie in de provincies Limburg (78,0%), Friesland (54,6%), Overijssel (59,9%) en Utrecht (83,8%), terwijl *spa*-type t108 het meest voorkwam in Gelderland (45,5%) en Noord-Brabant (47,0%). In de provincies Gelderland, Limburg, Noord-Brabant en Utrecht bestond meer dan 85% van de isolaten uit de *spa*-types t011 en t108. *Spa*-type t1457 lijkt hoofdzakelijk voor te komen in Groningen (100%) en Overijssel (18,7%) (Tabel A6.4).

Antibioticumresistentie

Humaan

Alle humane isolaten waren resistent tegen tetracycline en gevoelig voor vancomycine, linezolid, mupirocin, teicoplanin, nitrofurantoin en rifampicine. Resistentie tegen fusidinezuur, ciprofloxacine, gentamicine, tobramycine, cotrimoxazole, erythromycine en clindamycine varieerde. Resistentie tegen cotrimoxazole, erythromycine en clindamycine kwamen het meest frequent voor (48%).

Veterinair

Van 344 isolaten, afkomstig van 103 zeugenbedrijven, is een antibioticumgevoeligheidsbepaling bekend. Op een bedrijf werden 1-15 isolaten getest (mediaan = 1; Q1-Q3 = 1-5). Alle isolaten (incl. ST1 en ST5) waren gevoelig

Tabel A6.5 *Spa*-type, repeat volgorde, MLST-type, frequentie van voorkomen (aantal en %) en het aantal bedrijven waar dit type gevonden werd

<i>spa</i> -type	repeat volgorde ¹	ST-type ¹	frequentie		bedrijven
			n	%	n
t002	26-23-17-34-17-20-17-12-17-17	ST-5	5	0,5	1
t011	08-16-02-25-34-24-25	ST-398	485	52,5	69
t034	08-16-02-25-02-25-34-24-25	ST-398	3	0,3	1
t108	08-16-02-25-24-25	ST-398	315	34,1	50
t1184	08-16-02-25-25	ST-398	12	1,3	4
t127	07-23-21-16-34-33-13	ST-1	16	1,7	2
t1451	08-16-02-25-34-25	ST-398	1	0,1	1
t1456	08-16-02-25	ST-398	8	0,9	2
t1457	08-16-02-25-34-02-25-34-24-25	ST-398	36	3,9	9
t2011	08-16-16-02-25-34-24-25	ST-398	1	0,1	1
t2330	08-16-02-25-34-24-25-25	ST-398	9	1,0	1
t2346	08-16-02-25-34-24-24-25	ST-398	4	0,4	1
t3479	08-16-02-25-24-24-25	ST-398	3	0,3	1
t4119	09-02-25-24-25	ST-398	1	0,1	1
t567	08-02-25-24-25	ST398	11	1,2	2
t571	08-16-02-25-02-25-34-25	ST-398	4	0,4	1
t588	08-16-02-24-25	ST-398	4	0,4	1
t899	07-16-23-02-34	ST-398	6	0,6	3

dikgedrukte *spa*-typen behoren niet tot ST398

¹ afkomstig van www.spaserver.ridom.de

Tabel A6.6 Aantal geteste MRSA-isolaten per spa-type en de prevalentie van voorkomen van resistentie tegen de geteste antibiotica

spa-type	t002 ¹	t011	t034	t108	t1184	t127 ¹	t1456	t1457	t2330	t2346	t567	t571	t588	totaal
aantal isolaten	5	202	1	94	3	1	1	15	1	4	11	1	4	344
Antibioticum														
Amikacine	0,0	3,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	25,0	0,0	0,0	0,0	2,3
Ciprofloxacine	100,0	4,0	0,0	5,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0	0,0	0,0	0,0	5,2
Clindamycine	40,0	59,9	100,0	58,5	66,7	100,0	100,0	33,3	100,0	100,0	9,1	0,0	100,0	57,6
Erythromycine	40,0	59,9	100,0	61,7	66,7	100,0	100,0	33,3	100,0	100,0	9,1	0,0	100,0	58,4
Fusidinezuur	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	13,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6
Gentamicine	60,0	66,3	0,0	4,3	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	42,4
Linezolid	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Mupirocin	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Neomycine	100,0	35,6	0,0	1,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	22,7
Rifampicine	0,0	0,0	0,0	10,6	33,3	0,0	0,0	26,7	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0	5,5
Tetracycline	40,0	100	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	99,1

¹ geen ST398

voor mupirocin en linezolid; de ST398-isolaten en t127 (ST1) waren resistent tegen tetracycline. Resistentie tegen clindamycine en erythromycine werd in respectievelijk 57,6% en 58,4% van de isolaten gezien en komt ook bij bijna alle spa-typen voor. Resistentie tegen gentamicine (42,4%) en neomycine (22,7%) komt eveneens regelmatig voor. In spa-type t011 kwam resistentie tegen gentamicine (66,3%) en neomycine (35,6%) vaker voor dan in spa-type t108 (respectievelijk 4,3 en 1,1%) (Tabel A6.6).

Risicofactorenanalyse

Humaan

In de univariate analyse kwam de mate van contact met varkens op een MRSA-positief bedrijf als belangrijke risicofactor naar voren (Tabel A6.7). In personen met intensief contact met varkens was de prevalentie 28,6%, terwijl deze 1,8% was in personen die geen contact hadden met varkens. Op MRSA-positieve bedrijven

was de prevalentie voor personen met intensief contact 49,1% en voor personen zonder contact 2,9%. Als op het bedrijf zeugen aanwezig waren was de MRSA-prevalentie onder personen op dat bedrijf hoger dan als er alleen vleesvarkens aanwezig waren op het bedrijf.

Aangezien op MRSA-negatieve bedrijven geen MRSA-positieve personen werden gevonden, werden in de multivariate analyse alleen gegevens van personen afkomstig van een MRSA-positief bedrijf meegenomen (n=139, afkomstig van 28 bedrijven). Na multivariate analyse bleven alleen de mate van contact met varkens en de aanwezigheid van zeugen en vleesvarkens over als verklarende variabelen (Tabel A6.8). Personen die dagelijks werkzaam waren in de varkenshouderij hadden een 40 maal hoger risico om MRSA-positief te zijn dan personen die niet in contact kwamen met varkens. En als er zeugen en vleesvarkens aanwezig waren op het bedrijf was het risico op MRSA-positief zijn 9 maal hoger dan als er alleen vleesvarkens aanwezig waren op het bedrijf.

Tabel A6.7 MRSA-prevalentie van personen woonachtig en/of werkzaam op varkensbedrijven (univariate logistische regressie)

	personen van alle bedrijven		personen van MRSA-positieve bedrijven	
	totaal	% MRSA	totaal	% MRSA
totaal	232	14,2%	139	23,7%
intensief contact met varkens ¹	98	28,6%	57	49,1%
minimaal contact met varkens ²	25	12,0%	14	21,4%
geen contact met varkens	109	1,8%	68	2,9%
zeugen en vleesvarkens aanwezig	58	25,9%	32	46,9%
alleen zeugen aanwezig	40	12,5%	9	55,6%
alleen vleesvarkens aanwezig	129	10,1%	98	13,3%
alleen opfokvarkens aanwezig	5	0,0%	0	0,0%

dikgedrukte variabelen hadden een P-waarde < 0,05

¹ intensief contact = personen dagelijks werkzaam in de varkenshouderij

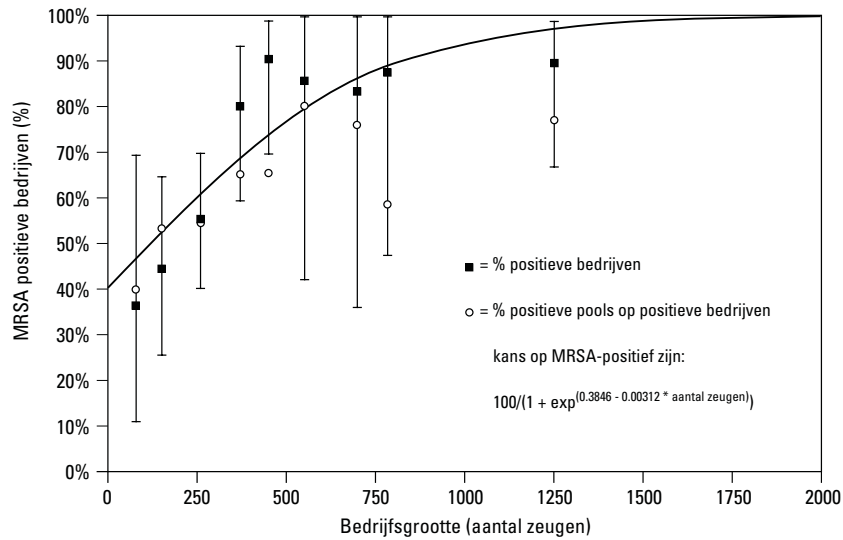
² minimaal contact = personen niet werkzaam in de veehouderij, maar minimaal 1x per week contact met varkens

Tabel A6.8 Variabelen en hun effect in het multivariate eindmodel voor MRSA-positieve personen op MRSA-positieve varkensbedrijven

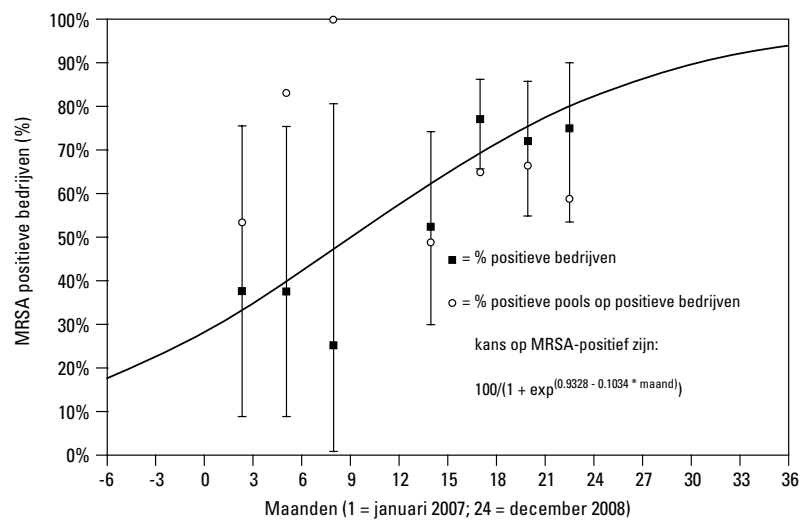
	OR	95% btbhi	P-waarde
intensief contact met varkens ¹	39,9	7,6-208,8	<0,0001
minimaal contact met varkens ²	9,4	1,2-73,5	0,03
geen contact met varkens	ref	ref	
zeugen en vleesvarkens aanwezig	8,8	2,6-29,9	0,001
alleen zeugen aanwezig	3,5	0,8-16,6	0,11
alleen vleesvarkens aanwezig	ref	ref	

¹ intensief contact = personen dagelijks werkzaam in de varkenshouderij

² minimaal contact = personen niet werkzaam in de veehouderij, maar minimaal 1x per week contact met varkens



Figuur A6.3. Percentage MRSA-positieve bedrijven en het percentage positieve pools op positieve bedrijven gerelateerd aan de bedrijfsgrootte (aantal zeugen)



Figuur A6.4. Het verloop van het percentage MRSA-positieve bedrijven en het percentage positieve pools op positieve bedrijven in de tijd (onderzoekperiode in maanden; start onderzoek in maand 1)

Tabel A6.9 Variabelen en hun effect in het multivariate eindmodel voor het risico MRSA-positief zijn van een bedrijf (n=171)

variabele	categorie	OR	95% btbhi	P-waarde
aantal zeugen per 100	continu	1,32	1,11-1,57	0,0016
tijdsverloop per maand	continu	1,09	1,02-1,16	0,0146

*Veterinair*Bedrijfsniveau

Uit de univariate analyse op bedrijfsniveau (n=171) bleven tien variabelen over voor de multivariate analyse (Tabel A6.1). Aangezien niet in beide jaren in alle seizoenen gemeten is, seizoen verstrengeld was met bedrijfsgrootte (Tabel A6.11) en 'verloop in de tijd' als variabele zeer significant was in de univariate analyse, is gekozen voor 'verloop in de tijd' in het multivariate model en is seizoen niet meegenomen in het startmodel. Na verwijdering van telkens de minst significante variabele uit het model bleven uiteindelijk de bedrijfsgrootte (per 100 zeugen) en het verloop in de tijd (per maand) als verklarende variabelen over (Tabel A6.9). Er was geen significante interactie aanwezig tussen beide variabelen. De prevalentie nam significant ($P < 0,0001$) toe met de bedrijfsgrootte: bedrijven met minder dan 250 zeugen zijn in circa 40% van de gevallen MRSA-positief, oplopend tot meer dan 80% op bedrijven groter dan 500 zeugen. Ook het percentage positieve pools per bedrijf laat een stijgende lijn zien bij toename van het aantal zeugen: van circa 50% op bedrijven met minder dan 250 zeugen, oplopend tot circa 75% op bedrijven groter dan 500 zeugen (Figuur A6.3). Daarnaast nam het percentage positieve bedrijven toe in de tijd: van circa 30% in het eerste kwartaal van 2007 tot circa 75% in het laatste kwartaal van 2008. Het percentage positieve pools op een positief bedrijf nam niet toe in de tijd, maar bleef nagenoeg gelijk op ongeveer 60-65% (Figuur A6.4).

Poolniveau (n=1699)

Naast de tien variabelen die ook in het model op bedrijfsniveau zijn meegenomen, bleven 'aanvoer van gelten ja/nee', 'antibioticumtoepassing' en 'leeftijdsgroep' op basis van de univariate analyse over naast de variabelen 'bedrijfsgrootte' en 'verloop in de tijd' voor het multivariate model op poolniveau (Tabel A6.1-3). Seizoen is om dezelfde reden als in de analyse op bedrijfsniveau niet meegenomen in de analyse op poolniveau. Antibioticumtoepassing is op vijf verschillende manieren in klassen ingedeeld (Tabel A6.3) en multivariate analyse is vijf keer uitgevoerd voor met iedere classificatie een afzonderlijk model (model a-e). Na verwijdering van telkens de minst significante variabele uit het model bleven uiteindelijk bedrijfsgrootte (aantal zeugen; OR weergegeven per 100 zeugen), het verloop in de tijd en de leeftijdsgroep over als verklarende variabelen met een P-waarde $< 0,05$ (Tabel A6.10a-e). Evenals in de analyse op bedrijfsniveau neemt het risico op positief zijn toe in de tijd en met de bedrijfsgrootte. Daarnaast zijn poolmonsters van zeugen in 38,3% van de gevallen

positief. Poolmonsters van opfokdieren zijn minder vaak positief (23,8%), die van vleesvarkens in gelijke mate (38,7%). Poolmonsters van speen- en kraambiggen zijn daarentegen vaker positief (respectievelijk 52,9 en 53,4%).

Gezien de aandacht voor antibioticumtoepassing is deze variabele, ondanks een P-waarde $> 0,05$, in alle eindmodellen opgenomen (Tabel A6.10a-e). Het weglaten van de variabele antibioticumtoepassing had geen enkel effect op de schattingen van de andere variabelen in het eindmodel. Poolmonsters van dieren die met antibioticum behandeld worden zijn vaker positief (45,5%) dan poolmonsters van dieren die niet met antibiotica behandeld worden (32,6%) (Tabel A6.10a). Bij de opsplitsing van antibioticumtoepassing in standaard (preventief) en incidenteel (alleen curatief), blijken poolmonsters van varkens die standaardbehandelingen krijgen vaker positief (51,0%) dan die van varkens die incidenteel behandeld worden (40,5%) (Tabel A6.10b). In de categorieën waar risico-antibiotica (beta-lactam-antibiotica en tetracyclinen) toegepast worden, zijn telkens de meeste poolmonsters MRSA-positief in vergelijking met de categorieën waarin geen antibiotica of andere (niet-risico)-antibiotica worden toegepast (Tabel A6.10c-e). Het percentage dieren en de klasse van antibioticumtoepassing varieert tussen de verschillende leeftijdsgroepen. Het toepassen van standaardbehandelingen, met name van de risico-antibiotica, bij kraam- en speenbiggen is significant hoger dan in de andere drie leeftijdsgroepen ($P < 0,0001$; Tabel A6.2). Ondanks een P-waarde $< 0,0001$ in de univariate analyse (en dus ongecorrigeerd voor andere factoren), was de variabele 'antibioticumtoepassing' niet significant in de vijf multivariate eindmodellen. Er was geen significante interactie aanwezig tussen de variabelen in de verschillende eindmodellen. De resultaten van de modellen bij logistische regressie met en zonder random bedrijfseffect, om te corrigeren voor de afhankelijkheid van poolmonsters van één bedrijf, waren nauwelijks verschillend van elkaar. In de tabellen A6.10a-e zijn daarom alleen de resultaten van de modellen met random bedrijfseffect opgenomen.

Tabel A6.10a Variabelen en hun effect in eindmodel a voor MRSA-positief zijn op poolmonsterniveau, gecorrigeerd voor bedrijfseffect (n=1699)

variabele	categorie	frequentie		prevalentie	OR	95% btbhi	P-waarde	P-overall
		n	%					
aantal zeugen per 100	continu				1,30	1,17-1,45	< 0,0001	
tijdsverloop per maand	continu				1,10	1,01-1,19	0,0244	
leeftijdsgroep	opfok	147	8,7	23,8	0,23	0,13-0,41	< 0,0001	< 0,0001
	vleesvarkens	111	6,5	38,7	1,84	0,94-3,60	0,0735	
	speenbiggen	382	22,5	52,9	4,60	3,10-6,81	< 0,0001	
	kraambiggen	322	19,0	53,4	3,65	2,44-5,45	< 0,0001	
	zeugen	737	43,4	38,3	ref	ref	ref	
antibioticumtoepassing	ja	1395	82,1	45,5	1,68	0,98-2,88	0,0614	
	nee	304	17,9	32,6	ref	ref	ref	

Tabel A6.10b Variabelen en hun effect in eindmodel b voor MRSA-positief zijn op poolmonsterniveau, gecorrigeerd voor bedrijfseffect (n=1699)

variabele	categorie	frequentie		prevalentie	OR	95% btbhi	P-waarde	P-overall
		n	%					
aantal zeugen per 100	continu				1,31	1,17-1,46	< 0,0001	
tijdsverloop per maand	continu				1,10	1,01-1,19	0,0245	
leeftijdsgroep	opfok	147	8,7	23,8	0,23	0,13-0,41	< 0,0001	< 0,0001
	vleesvarkens	111	6,5	38,7	1,82	0,93-3,56	0,0809	
	speenbiggen	382	22,5	52,9	4,77	3,17-7,17	< 0,0001	
	kraambiggen	322	19,0	53,4	3,86	2,50-5,97	< 0,0001	
	zeugen	737	43,4	38,3	ref	ref	ref	
antibioticumtoepassing	standaard	669	39,4	51,0	1,80	1,01-3,21	0,0473	0,1396
	incidenteel	726	42,7	40,5	1,56	0,87-2,79	0,1392	
	nee	304	17,9	32,6	ref	ref	ref	

Tabel A6.10c Variabelen en hun effect in eindmodel c voor MRSA-positief zijn op poolmonsterniveau, gecorrigeerd voor bedrijfseffect (n=1699)

variabele	categorie	frequentie		prevalentie	OR	95% btbhi	P-waarde	P-overall
		n	%					
aantal zeugen per 100	continu				1,31	1,17-1,46	< 0,0001	
tijdsverloop per maand	continu				1,10	1,01-1,19	0,0236	
leeftijdsgroep	opfok	147	8,7	23,8	0,23	0,13-0,40	< 0,0001	
	vleesvarkens	111	6,5	38,7	1,74	0,88-3,43	0,1090	
	speenbiggen	382	22,5	52,9	4,77	3,19-7,14	< 0,0001	
	kraambiggen	322	19,0	53,4	4,02	2,55-6,32	< 0,0001	
	zeugen	737	43,4	38,3	ref	ref	ref	
antibioticumtoepassing	risico-std	418	24,6	55,5	2,16	0,92-5,12	0,0790	0,2745
	risico-inc	778	45,8	42,3	2,09	0,86-5,11	0,1042	
	overig-std	109	6,4	39,5	1,70	0,94-3,10	0,0814	
	overig-inc	90	5,3	34,4	1,40	0,75-2,61	0,2938	
	nee	304	17,9	32,6	ref	ref	ref	

Tabel A6.10d Variabelen en hun effect in eindmodel d voor MRSA-positief zijn op poolmonsterniveau, gecorrigeerd voor bedrijfseffect (n=1699)

variabele	categorie	frequentie		prevalentie	OR	95% btbhi	P-waarde	P-overall
		n	%					
aantal zeugen per 100	continu				1,31	1,17-1,46	< 0,0001	
tijdsverloop per maand	continu				1,10	1,01-1,19	0,0241	
leeftijdsgroep	opfok	147	8,7	23,8	0,23	0,13-0,41	< 0,0001	< 0,0001
	vleesvarkens	111	6,5	38,7	1,79	0,91-3,51	0,0921	
	speenbiggen	382	22,5	52,9	4,79	3,21-7,16	< 0,0001	
	kraambiggen	322	19,0	53,4	4,06	2,59-6,37	< 0,0001	
	zeugen	737	43,4	38,3	ref	ref	ref	
antibioticumtoepassing	risico-std	418	24,6	55,5	1,43	0,77-2,66	0,2542	0,1016
	overig	977	57,5	41,3	1,83	1,04-3,22	0,0370	
	nee	304	17,9	32,6	ref	ref	ref	

Tabel A6.10e Variabelen en hun effect in eindmodel e voor MRSA-positief zijn op poolmonsterniveau, gecorrigeerd voor bedrijfseffect (n=1699)

variabele	categorie	frequentie		prevalentie	OR	95% btbhi	P-waarde	P-overall
		n	%					
aantal zeugen per 100	continu				1,31	1,17-1,46	< 0,0001	
tijdsverloop per maand	continu				1,10	1,01-1,19	0,0233	
leeftijdsgroep	opfok	147	8,7	23,8	0,23	0,13-0,40	< 0,0001	< 0,0001
	vleesvarkens	111	6,5	38,7	1,77	0,90-3,47	0,0982	
	speenbiggen	382	22,5	52,9	4,62	3,11-6,85	< 0,0001	
	kraambiggen	322	19,0	53,4	3,68	2,46-5,51	< 0,0001	
	zeugen	737	43,4	38,3	ref	ref	ref	
antibioticumtoepassing	risico	1196	70,4	46,9	1,57	0,89-2,74	0,1168	0,1068
	overig	199	11,7	37,2	2,09	1,04-4,17	0,0376	
	nee	304	17,9	32,6	ref	ref	ref	

standaard = preventief toegepaste medicatie, vaak voorgeschreven voor een gehele groep/afdeling; incidenteel = incidentele, curatieve toepassing van antibiotica; risico-std = standaardtoepassing van bèta-lactam antibiotica en/of tetracyclinen; risico-inc = incidentele toepassing van bèta-lactam antibiotica en/of tetracyclinen; overig-std = standaardtoepassing van antibiotica anders dan bèta-lactam antibiotica en/of tetracyclinen; overig-inc = incidentele toepassing van antibiotica anders dan bèta-lactam antibiotica en/of tetracyclinen; risico = toepassing van bèta-lactam antibiotica en/of tetracyclinen; overig = toepassing van antibiotica anders dan bèta-lactam antibiotica en/of tetracyclinen

Effect van bedrijfsgrootte

Uit de multivariate analyse op bedrijfsniveau vallen veel verklarende variabelen, die geselecteerd waren op basis van de univariate analyse, weg. Dit zijn het bedrijfstype (A of B), de varkensdichtheid van de regio, de aanwezigheid van vleesvarkens en andere dieren op het bedrijf, de hygiënescore, het wel/niet bestrijden van vliegen en het wel/niet hebben van een vlotterton in het drinkwatersysteem. Voor de multivariate analyse op poolniveau geldt hetzelfde; naast de hierboven genoemde variabelen valt bovendien ook de variabele 'aanvoer van gelten' weg. Uiteindelijk zijn de variabelen die wegvallen in de multivariate analyse ieder voor zich niet voldoende geassocieerd met MRSA-positief zijn, ondanks een P-waarde < 0,05 in de univariate analyse. Alle variatie

binnen deze weggevallen variabelen wordt weggenomen door de variabele bedrijfsgrootte (uitgedrukt in aantal zeugen). Tabel A6.11 laat de relaties zien tussen een aantal van die variabelen en de gemiddelde bedrijfsgrootte. Daaruit blijkt dat al die variabelen geassocieerd waren met het aantal zeugen op een bedrijf. Bedrijven van type A zijn gemiddeld groter (570 zeugen) dan bedrijven van type B (310 zeugen). Bedrijven die gelten aanvoeren zijn eveneens gemiddeld groter (511 zeugen) dan bedrijven die geen gelten aanvoeren (373 zeugen). Bedrijven die ongediertebestrijding uitbesteden aan professionals zijn gemiddeld groter (560 zeugen) dan bedrijven die dit zelf doen (312 zeugen) en bedrijven die vliegen bestrijden zijn eveneens groter (457 zeugen) dan bedrijven die dit niet doen (288 zeugen). Bedrijven die meer dan vijf

hygiënemaatregelen toepassen zijn gemiddeld groter (535 zeugen) dan bedrijven met een gemiddelde of lagere hygiënescore (respectievelijk 419 en 323 zeugen), en ook antibioticum wordt vaker toegepast op gemiddeld grotere bedrijven (449 zeugen) dan op kleinere bedrijven (355 zeugen). Bedrijven die standaard risico-antibiotica toepassen zijn gemiddeld groter (508 zeugen) dan bedrijven die andere antibiotica en/of risico-antibiotica incidenteel toepassen (424 zeugen) en wederom veel groter dan bedrijven die geen antibiotica toepassen (355 zeugen). Bedrijven waar naast zeugen ook vleesvarkens en/of andere dieren aanwezig zijn, zijn gemiddeld kleiner dan bedrijven waar deze dieren ontbreken. Bedrijven in de varkensdichte gebieden zijn gemiddeld groter (465

zeugen) dan bedrijven in de varkensluwe gebieden (401 zeugen). Dit is ook terug te vinden in Tabel A6.4 waar de gemiddelde bedrijfsgrootte per provincie is weergegeven.

Vergelijking laboratoria en monsters

Vergelijking laboratoria RIVM en GD

Resultaten van de acht bedrijven, bemonsterd in het kader van de laboratoriumvergelijking, laten zien dat alle bedrijven minimaal 1 MRSA-positief monster hadden bij beide laboratoria. Alle positieve monsters werden bevestigd met PCR en waren dus ook werkelijk positief. De prevalentie van MRSA-positieve bedrijven was dan ook voor beide laboratoria 100%. Het RIVM vond 72,5% (58/80) van de poolmonsters en 50,0% (20/40) van de stofmonsters MRSA-positief. De GD vond 57,5% (46/80) van de poolmonsters en 52,5% (21/40) van de stofmonsters MRSA-positief (Tabel A6.12). De Cohen's kappa, als maat voor de overeenkomst tussen resultaten van pool- en stofmonsters, voor alle monsters was 0,57 (95% btbhi: 0,42-0,72). De Cohen's kappa voor alleen de poolmonsters was 0,63 (95% btbhi: 0,46-0,79), terwijl die voor de stofmonsters 0,45 (95% btbhi: 0,17-0,73) was. Als de som van de resultaten van beide laboratoria als gouden standaard wordt gedefinieerd, dan is de relatieve sensitiviteit van het GD-laboratorium 78,8% (95% btbhi: 70,1-87,5) en die van het RIVM-laboratorium 91,8% (95% btbhi: 85,9-97,6).

Tabel A6.11 Gemiddelde bedrijfsgrootte per categorie van relevante variabelen

variabele	categorie	gemiddelde bedrijfsgrootte
bedrijfstype	A	570 ^a
	B	310 ^b
seizoen	lente	386 ^a
	zomer	488 ^b
	herfst	442 ^{ab}
	winter	452 ^{ab}
ongediertebestrijding	zelf	312 ^a
	professioneel	560 ^b
aanvoer van gelten	ja	511 ^a
	nee	373 ^b
vliegenbestrijding	ja	457 ^a
	nee	288 ^b
aanwezigheid andere dieren	ja	401 ^a
	nee	554 ^b
aanwezigheid vleesvarkens	ja	355 ^a
	nee	476 ^b
vlotterton	ja	345 ^a
	nee	503 ^b
dichtheid	>17 varkens/ha	465 ^a
	≤17 varkens/ha	401 ^b
hygiënescore	laag	323 ^a
	gemiddeld	419 ^b
	hoog	535 ^c
antibioticumtoepassing (model a)	ja	449 ^a
	nee	355 ^b
antibioticumtoepassing (model b)	std	486 ^a
	inc	415 ^b
	nee	355 ^c
antibioticumtoepassing (model c)	risico-std	508 ^b
	risico-inc	434 ^a
	overig-std	419 ^{abd}
	overig-inc	346 ^{ad}
	nee	355 ^{cd}
antibioticumtoepassing (model d)	risico-std	508 ^a
	overig	424 ^b
	nee	355 ^c
antibioticumtoepassing (model e)	risico	460 ^a
	overig	386 ^b
	nee	355 ^b

^{abcd} verschillend superscript binnen één variabele betekent dat de waarden significant verschillend zijn (P<0,05; generalized linear regression, Proc GLM, SAS, versie 9.1)

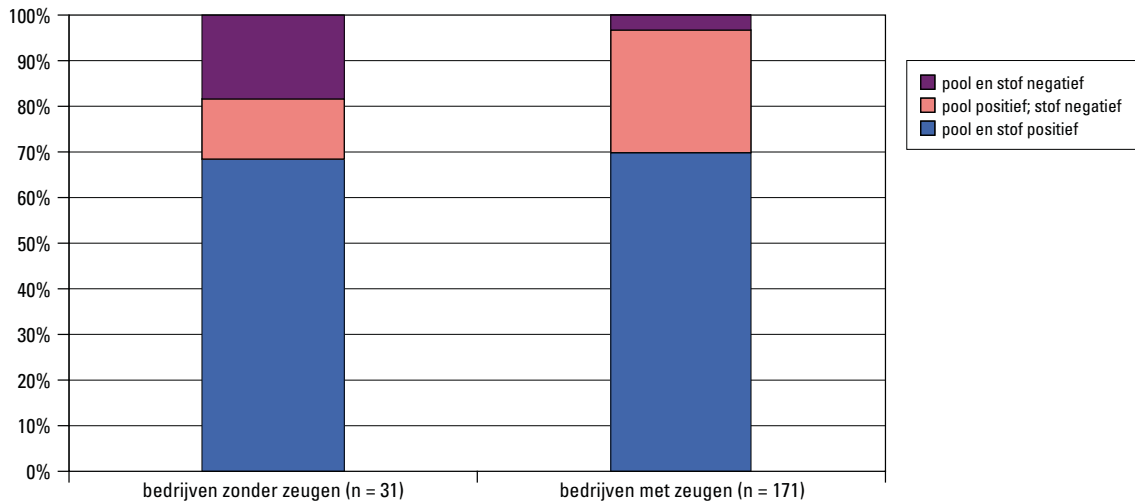
Tabel A6.12 Aantal en percentage positieve pools, stofmonsters en bedrijven voor het laboratorium van RIVM en GD.

laboratorium	Aantal positief					
	pool		stof		bedrijf	
	n	%	N	%	n	%
RIVM	58	72,5	20	50,0	8	100,0
GD	46	57,5	21	52,5	8	100,0

Overeenkomst tussen pool- en stofmonsters

Ongeveer 70% van de MRSA-positieve bedrijven was positief op basis van minimaal één positief poolmonster en minimaal één positief stofmonster. Dit percentage was voor bedrijven zonder zeugen (n=31) en bedrijven met zeugen (n=171) nagenoeg gelijk (respectievelijk 68,2 en 69,8%). De overige positieve bedrijven waren positief op basis van pool- of stofmonsters. Voor bedrijven zonder zeugen was 13,6% positief op basis van alleen poolmonsters en 18,2% op basis van alleen stofmonsters. Voor bedrijven met zeugen was 26,7% positief op basis van alleen poolmonsters en 3,5% op basis van alleen stofmonsters (Figuur A6.5).

De Cohen's kappa, als maat voor de overeenkomst tussen resultaten van pool- en stofmonsters, was 0,53 (95% btbhi: 0,23-0,83) voor bedrijven zonder zeugen en 0,59 (95% btbhi: 0,48-0,71) voor bedrijven met zeugen.



Figuur A6.5 Percentage van MRSA-positieve bedrijven gebaseerd op pool- en/of stofmonsters

Discussie

Het doel van deze studie was om een betrouwbare nationale prevalentie voor MRSA-positieve varkensbedrijven en voor personen woonachtig en/of werkzaam op die bedrijven te bepalen en om risicofactoren te identificeren en te kwantificeren. De prevalentie van MRSA-positieve zeugenbedrijven is geschat op 67,8% en de belangrijkste risicofactoren die geassocieerd waren met positief-zijn, waren terug te voeren tot bedrijfsomvang en verloop in de tijd. De prevalentie voor MRSA bij personen woonachtig en/of werkzaam op die bedrijven is geschat op 14,2% en de belangrijkste risicofactoren die geassocieerd waren met positief zijn, waren terug te voeren tot de mate van contact met MRSA-positieve varkens en de aanwezigheid van zeugen en vleesvarkens op het bedrijf.

De prevalentie van MRSA-positieve personen woonachtig en/of werkzaam op varkenshouderijen was 14,2%; er werden alleen MRSA-positieve personen gevonden op MRSA-positieve bedrijven. Op MRSA-positieve bedrijven nam de prevalentie van MRSA-positieve personen toe van 3% bij personen die geen contact hadden met varkens naar 49% bij personen die intensief contact hadden met varkens. Deze prevalentie is vele malen hoger dan de nationale achtergrondprevalentie (0,03%) en daarmee bevestigt dit onderzoek dat mensen die werken met varkens een verhoogd risico hebben om MRSA-positief te zijn [18]. Aangezien er alleen MRSA-positieve personen zijn gevonden op MRSA-positieve bedrijven is de meest waarschijnlijke transmissieroute van MRSA die van varkens naar mensen. De mate van contact tussen personen en varkens en de aanwezigheid van zeugen bleken belangrijke risicofactoren. Zeugenhouders hebben over het algemeen meer en intensiever contact met hun varkens, wat een verklaring zou kunnen zijn voor de hogere prevalentie op bedrijven met zeugen. Dat slechts 2% van de personen die geen contact hadden met varkens,

MRSA-positief bleek te zijn, zou kunnen betekenen dat de mate van transmissie van MRSA tussen personen laag is. De nationale prevalentie van MRSA-positieve zeugenbedrijven van 67,8% is hoger dan eerder gepubliceerde prevalenties [10, 11] aangeven. In deze publicaties zijn niet alleen zeugenbedrijven bemonsterd, maar ook vleesvarkensbedrijven en in de studie van Van Duijkeren [10] werden 10 dieren per bedrijf bemonsterd in plaats van 60 varkens, zoals in onze studie en in de studie van Van der Broek [11]. Met een steekproefgrootte van 10 dieren per bedrijf, kan MRSA aangetoond worden als de binnenbedrijfsprevalentie minimaal 25% is. Met een steekproefgrootte van 60 dieren kan MRSA aangetoond worden als de binnenbedrijfsprevalentie minimaal 5% is. Deze verschillen in opzet zouden een verklaring voor het verschil in prevalentie kunnen verklaren.

In onze studie was het aandeel A-bedrijven hoger (18%) dan het aandeel B-bedrijven (3%). Aangezien de prevalentie onder A-bedrijven hoger was (76,3%) dan die van B-bedrijven (60,4%), is de door ons geschatte prevalentie van MRSA-positieve zeugenbedrijven een overschatting van circa 5%. Daarbij moet wel gezegd worden dat A-bedrijven gemiddeld groter (570 zeugen) waren dan B-bedrijven (310 zeugen) wat het verschil in prevalentie tussen beide bedrijfstypen deels zou kunnen verklaren.

Aangezien in onze studie de neusswabs in pools van 6 swabs zijn onderzocht, is het niet mogelijk een gemiddelde binnenbedrijfsprevalentie uit te rekenen. Als een pool positief is, kan het zijn dat er 1 tot 6 dieren uit de pool MRSA bij zich droegen. De gemiddelde prevalentie van positieve monsters per positief bedrijf (63,3%) geeft wel aan dat als MRSA op een bedrijf voorkomt, dit vaak in meerdere pools, en dus leeftijdsgroepen, gevonden werd. Onderzoek naar de prevalentie onder individuele varkens op een bedrijf en longitudinaal onderzoek kunnen meer inzicht verschaffen in de binnenbedrijfsprevalentie

en de verspreiding tussen varkens binnen een bedrijf. De prevalentie van MRSA-positieve bedrijven neemt sinds de start van het onderzoek iedere maand toe en bij extrapolatie van de schatting zullen binnen enkele jaren nagenoeg alle zeugenbedrijven in Nederland MRSA-positief zijn. Het percentage positieve poolmonsters per bedrijf bleef daarentegen gelijk gedurende de studieperiode. De stijging van het percentage MRSA-positieve bedrijven in de tijd kan niet verklaard worden door de overstap van het RIVM naar de GD. Bij vergelijking van de laboratoria waren alle acht bedrijven MRSA-positief bij beide laboratoria. Voor de analyse op bedrijfsniveau zal de overstap naar een ander laboratorium dus geen effect gehad hebben. Het totale aantal positieve poolmonsters, en daarmee de relatieve sensitiviteit, lag bij het laboratorium van het RIVM hoger dan bij het laboratorium van de GD, wat het nog minder plausibel maakt dat de stijging van het percentage MRSA-positieve bedrijven in de tijd verklaard kan worden door de overstap van het RIVM naar de GD. Het grotere aantal positieve pools per bedrijf dat gevonden werd bij het RIVM vergeleken met de GD, zou consequenties kunnen hebben voor de analyse op poolniveau. Echter, in deze analyse werd gecorrigeerd voor bedrijfseffect en bovendien was het verschil in aantal positieve pools per bedrijf gemiddeld slechts 1,5 pool. De meest waarschijnlijke verklaring voor de stijging van het aantal MRSA-positieve zeugenbedrijven in de tijd is dat MRSA zich binnen Nederland verspreidt tussen varkensbedrijven. Van de 18 verschillende *spa*-typen die werden gevonden in deze studie, behoorden 16 *spa*-typen tot ST398. De mate van genetische verwantschap tussen de verschillende *spa*-typen binnen ST398 is groot; vaak is er in de repeat-volgorde slechts 1 of 2 repeats verschil, wat verklaard zou kunnen worden door mutatie. Onze typering beperkt zich echter tot het staphylococcal protein A (*spa*), dat een zeer klein stukje is van het gehele organisme. Het voorkomen van verschillende *spa*-typen zou ook verklaard kunnen worden door insleep van MRSA vanuit verschillende bronnen. Nader onderzoek naar de moleculaire evolutie van MRSA ST398 moet de oorsprong en genetische verwantschap tussen de verschillende *spa*-typen uitwijzen. *Spa*-typen t011 en t108 werden het meest frequent geïsoleerd. Dit is in overeenstemming met andere studies naar MRSA in de Nederlandse varkenshouderij [10, 11, 13]. *Spa*-type t1457 lijkt te clusteren in het noordoosten van Nederland. Alle 8 isolaten uit de provincie Groningen en 25 isolaten uit Overijssel waren van dit type. Interessant zou zijn om de relatie tussen de bedrijven waar dit type wordt gevonden nader uit te zoeken. *Spa*-typen t002 en t127 behoren niet tot ST398, maar respectievelijk tot ST5 en ST1. *Spa*-type t002 wordt humaan in verschillende landen gevonden en is eerder in Canada ook in varkens aangetoond [4, 19]. In Nederland werd dit type gevonden in MSSA-isolaten uit ratten die gevangen waren genomen op varkensbedrijven [20]. *Spa*-type t127 is eerder beschreven als MRSA in paarden [21] en als MSSA in koeien en ratten [22, 23]. Ook in

isolaten afkomstig van Nederlandse varkensbedrijven werden MSSA-isolaten met *spa*-type t127 gevonden [24]. Het aantonen van andere ST-typen in de varkenshouderij in onze studie, maar bijvoorbeeld ook in China [25], benadrukt dat onderzoek naar de moleculaire evolutie van MRSA in de varkenshouderij noodzakelijk is. Een bepaling van de gevoeligheid voor bepaalde antibiotica is slechts op een beperkte selectie van de isolaten gedaan. Hierdoor is een analyse op de ontwikkeling van resistentie voor bepaalde antibiotica in de tijd onmogelijk. Conclusies over bepaalde resistentiepatronen binnen een *spa*-type moeten omzichtig gebracht worden, omdat van sommige *spa*-typen van slechts 1 isolaat een resistentiepatroon bekend is. Alle ST398-isolaten waren gevoelig voor mupirocin en linezolid en resistent tegen tetracycline. Dit laatste werd ook in andere studies naar MRSA ST398 gevonden en wordt in verband gebracht met grootschalige toepassing van tetracyclinen in de varkenshouderij [3, 10, 26]. Bij de toepassing van tetracyclinen zullen resistente micro-organismen, waaronder MRSA ST398, overleven en proportioneel toenemen, aangezien gevoelige micro-organismen worden afgedood. In de eindmodellen c, d en e van de multivariate analyse op poolniveau zien we dat de MRSA-prevalentie van poolmonsters hoger is als er risico-antibiotica, waaronder tetracyclinen, worden toegepast in vergelijking met categorieën waar andere of geen antibiotica worden toegepast. Dit verschil is echter niet significant. De bedrijfsgrootte is een belangrijke risicofactor die in de eindmodellen op bedrijfs- en poolniveau als significante variabele overblijft. Als het aantal zeugen met 100 toeneemt op een bedrijf neemt het risico op MRSA 1,3 keer toe. Ook voor andere infectieziekten, bijvoorbeeld influenza bij varkens en tuberculose bij runderen, is het effect van bedrijfsgrootte beschreven [27, 28]. Lang niet altijd is hiervoor een eenvoudige, biologische verklaring aan te wijzen. Op grote bedrijven wijken het management en bepaalde bedrijfskenmerken af van die op kleine bedrijven [29]. Dit maakt dat het effect van bedrijfsgrootte op de prevalentie vaak verstrengeld is met effecten van andere factoren die ieder op zich onvoldoende geassocieerd zijn met het vóórkomen van de infectieziekte. In onze analyse zien we dat een aantal variabelen wegvallen in de multivariate analyse en dat alle variatie binnen deze variabelen wordt weggenomen door de variabele bedrijfsgrootte. Uit onze studie blijkt dat bedrijven die gelten aanvoeren zijn gemiddeld groter zijn dan bedrijven die geen gelten aanvoeren. Aanvoer van varkens van een MRSA-positief bedrijf is een belangrijke risicofactor om MRSA-positief te zijn [12]. Bedrijven die gelten aanvoeren hebben dan ook een groter risico op insleep van MRSA dan gesloten bedrijven. Echter in onze risicofactorenstudie is de MRSA-status van het aanvoerende bedrijf onbekend. In onze studie zien we dat gemiddeld grotere bedrijven ongediertebestrijding vaker uitbesteden aan professionals. Deze professionals zouden kunnen bijdragen aan de

verspreiding van MRSA tussen en binnen bedrijven. De grote bedrijven compenseren dit deels door meer hygiënemaatregelen te nemen, maar kennelijk is dat onvoldoende om MRSA te voorkomen. Daarnaast kan MRSA ook via ongedierte en vliegen binnenkomen of verspreid worden op een bedrijf [19, 30, 31]. Uit onze analyse blijkt dat bedrijven die ongediertebestrijding professioneel uitbesteden en/of bedrijven die aan vliegenbestrijding doen gemiddeld groter zijn dan bedrijven die dat respectievelijk zelf of niet doen. Dit pleit in eerste instantie tegen insleep of verspreiding via ongedierte en/of vliegen, maar als je stelt dat bedrijven pas aan professionele ongediertebestrijding en/of vliegenbestrijding doen als er ook sprake is van overlast, dan zou insleep of verspreiding via ongedierte en/of vliegen op de grotere bedrijven ook een grotere rol kunnen spelen. De exacte rol van vliegen en ongedierte in de transmissie van MRSA tussen, maar ook binnen bedrijven is onbekend.

Naast een mogelijk verhoogd risico op insleep op grote bedrijven, blijft een infectie vaak ook langer aanwezig op grote bedrijven. Dat komt omdat transmissie van een infectieus agens onder andere afhankelijk is van het aantal infectieuze en gevoelige dieren en de mate van contact tussen de dieren [32]. Het aantal gevoelige dieren en het aantal (in)directe contacten tussen dieren neemt over het algemeen toe met het aantal dieren op een bedrijf, waardoor de kans op uitdoven van een infectie op een groot bedrijf kleiner is dan op een klein bedrijf [29]. De toename van het percentage positieve pools op positieve bedrijven met de bedrijfsgrootte zou eveneens verklaard kunnen worden met de toename van het aantal gevoelige dieren en het aantal (in)directe contacten op grotere bedrijven. De transmissieroute en –snelheid tussen varkens binnen een bedrijf kunnen met behulp van longitudinaal onderzoek nader bestudeerd worden. Verder zien we ook dat bedrijven die antibiotica toepassen gemiddeld groter zijn dan bedrijven die dat niet doen. Verschillende publicaties op humaan gebied laten een associatie zien tussen de toepassing van verschillende antibiotica en het voorkomen van MRSA [33-35]. Ook in de veehouderij zijn er suggesties in die richting gedaan, maar nog niet bevestigd [10, 13, 36]. Veehouders in onze studie waren bereid om informatie over antibioticumtoepassing te verschaffen, maar het bleek lastig om exact de middelen, toedieningswijze, leeftijdsgroepen, doseringen en duur van de behandeling te achterhalen op alle bedrijven. Om middelen en bedrijven netjes met elkaar te vergelijken zou antibioticumtoepassing in dagdoseringen uitgedrukt moeten worden [37]. Dat was met de door ons verzamelde informatie niet mogelijk. Wel hebben we de toepassing van antibiotica op verschillende manieren geclassificeerd om te kijken naar het verschil in effect van incidenteel (= incidentele, curatieve toepassing van antibiotica), en standaard (= preventief toegepaste medicatie, vaak voorgeschreven voor een gehele groep/afdeling) toepassing van antibiotica, waarbij extra aandacht is

besteed aan de toepassing van antibiotica die selecteren voor MRSA ST398, omdat deze resistent is tegen deze antibiotica (bèta-lactam-antibiotica en/of tetracyclinen). In de univariate analyse leek antibioticumtoepassing een risicofactor, maar in de multivariate analyse was antibioticumtoepassing niet significant; in alle modellen is de MRSA-prevalentie in de pools het hoogst in de klasse die de meest risicovolle antibioticum standaard toepast en het laagst in de klasse die geen antibiotica toepast. In de eindmodellen op poolniveau zien we daarnaast dat de variabele ‘leeftijdsgroep’ overblijft. Kraam- en speenbiggen hebben een verhoogd risico, en opfokdieren een verlaagd risico op MRSA in vergelijking met zeugen. Het risico voor vleesvarkens wijkt niet af van dat van zeugen. De toepassing van standaardbehandelingen, met name van de risico-antibiotica, bij kraam- en speenbiggen is significant hoger dan in de andere drie leeftijdsgroepen. Dit zou een verklaring kunnen zijn voor het verhoogde risico op MRSA in kraam- en speenbiggen. Daarnaast zijn kraam- en speenbiggen over het algemeen het meest gevoelig voor infectieziekten. Dit zou ook voor MRSA het geval kunnen zijn, maar nader onderzoek is nodig om dit vast te stellen.

De overeenkomst tussen resultaten van pool- en stofmonsters was redelijk, wat aangeeft dat als MRSA op een bedrijf voorkomt, deze niet alleen in de varkens zit, maar ook regelmatig in het stof voorkomt. Op bedrijven zonder zeugen werd 18,2% van de bedrijven als positief geclassificeerd op basis van alleen positieve stofmonsters, terwijl dit bij bedrijven met zeugen slechts 3,5% was. Dit verschil zou verklaard kunnen worden door de relatief lage poolprevalentie bij vleesvarkens en opfokdieren, terwijl op bedrijven met zeugen ook altijd kraam- en speenbiggen bemonsterd zijn die juist een relatief hoge poolprevalentie hebben. Maar het aantal bedrijven zonder zeugen is te beperkt om hier een betrouwbaar oordeel over te geven. De aanwezigheid van MRSA in stof zou kunnen betekenen dat voor transmissie van MRSA tussen varkens, maar ook tussen varkens en mensen, geen direct contact noodzakelijk is. In hoeverre stof bijdraagt aan de transmissie tussen varkens binnen een bedrijf, maar ook tussen bedrijven, moet nader onderzoek uitwijzen. Het nemen van stofmonsters is eenvoudig en goedkoop en het levert geen ongemak voor de dieren op. In de toekomst zou er voor gekozen kunnen worden om de bedrijfsstatus voor MRSA te monitoren met behulp van stofmonsters. De bepaling van het aantal benodigde stofmonsters hiervoor vergt nog nadere studie, maar zal wellicht meer zijn dan de vijf monsters die in deze studie gebruikt zijn. Concluderend kan gezegd worden dat MRSA op een groot aantal zeugenbedrijven in Nederland voorkomt en dat de prevalentie in de tijd stijgt. Grote bedrijven hebben een verhoogd risico, wat verklaard kan worden door de bedrijfsgrootte zelf en daarnaast door factoren die geassocieerd zijn met de bedrijfsgrootte, zoals de toepassing van antibiotica (verdeeld in standaard, incidenteel of geen), de aanvoer van gelten (ja of nee) en ongediertebestrijding (professioneel uitbestede of zelf).

De factor bedrijfs grootte is hiermee een verzameling van allerlei (risico)factoren, waardoor grotere bedrijven vaker MRSA-positief zijn, maar er kan niet worden aangeduid hoeveel deze factoren bijdragen aan de kans op positief zijn. Personen die intensief contact hebben met MRSA-positieve varkens hebben een sterk verhoogd risico om MRSA-positief te zijn.

Aanbevelingen

Onderzoek naar de binnenbedrijfsprevalentie en de verspreiding van MRSA binnen een bedrijf is noodzakelijk om tot effectieve interventie maatregelen op bedrijfsniveau te komen. Bij observationele studies in het veld is het lastig om het effect van een enkele factor te kunnen bepalen, aangezien talloze andere factoren tegelijkertijd spelen of variëren tijdens de studieperiode. In experimenteel onderzoek zal makkelijker het effect van een enkele factor of interventie maatregel getoetst kunnen worden. In hoeverre een mogelijke interventie, bijvoorbeeld restrictieve toepassing van antibiotica of de strikte scheiding van leeftijdsgroepen, leidt tot reductie van MRSA, is een vraag die beantwoord dient te worden door gegevens uit longitudinaal onderzoek in het veld te combineren met gegevens uit experimenteel onderzoek. Kleinschalige experimenten zijn reeds gaande in Lelystad (uitvoerder: Els Broens (WUR/RIVM)).

Onderzoek naar de rol van stof in de transmissie van MRSA tussen varkens en mensen, tussen varkens binnen een bedrijf, maar ook tussen bedrijven is van belang om het effect van persoonlijke beschermingsmiddelen (mondkapjes et cetera) en luchtwassers in te kunnen schatten. Dit onderzoek zou aan kunnen sluiten bij LNV MRSA-project 14 (MRSA in stof: indicator voor bedrijfsstatus).

Longitudinaal onderzoek op varkensbedrijven kan informatie opleveren over transmissieroutes, - snelheid en factoren van invloed daarop. Ook kan de MRSA-status van een bedrijf gedurende langere tijd gevolgd worden. Binnen twee Europese projecten, namelijk Pilgrim en Safeguard, wordt reeds op zeer beperkte schaal longitudinaal onderzoek gedaan.

Onderzoek naar de moleculaire evolutie en epidemiologie zou kunnen uitwijzen wat de oorsprong van MRSA in de varkenshouderij is en hoe dit zich ontwikkelt in de tijd. In vitro onderzoek naar de overdracht van SCCmec en andere virulentiefactoren van andere micro-organismen naar *Staphylococcus aureus* kan hiertoe eveneens bijdragen.

Meer gedetailleerd onderzoek/navraag naar de clustering van *spa*-type t1457 in het noordoosten van Nederland kan meer epidemiologische informatie opleveren.

Gerelateerde projecten

- MRSA in de varkensproductieketen (LNV MRSA-project 12)
- MRSA-transmissie slachthuis (LNV MRSA-project 13)
- Resistentieonderzoek MRSA-stammen (LNV MRSA-

project 5)

- Typing MRSA-isolaten (LNV MRSA-project 7)
- EU baseline survey on the prevalence of MRSA in breeding pigs
- Longitudinaal onderzoek naar MRSA-transmissie binnen varkensbedrijven (Safeguard en Pilgrim)
- Transmissie-experimenten voor MRSA in varkens (WUR)

Output

- Van den Broek, I.V.F., et al., Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in people living and working in pig farms. *Epidemiology and Infection*, 2009. 137(5): p. 700-8.
- Broens E.M., Graat E.A.M., van der Wolf P.J., van den Broek I.V.F., Tiemersma E.W., van der Giessen A.W., de Jong M.C.M., MRSA in pigs: a new threat to human health!? - posterpresentatie op WIAS Science Day – maart 2008, Wageningen, Nederland.
- Broens E.M., Graat E.A.M., van der Wolf P.J., van den Broek I.V.F., Tiemersma E.W., van der Giessen A.W., de Jong M.C.M., MRSA in pigs: a new threat to human health!? - posterpresentatie op en abstract in Proceedings van 1st ASM conference on Antimicrobial resistance in zoonotic bacteria and foodborne pathogens – juni 2008, Kopenhagen, Denemarken.
- wetenschappelijke publicatie in een double refereed tijdschrift (in progress).

Literatuur

1. Voss, A., et al., Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig farming. *Emerging Infectious Diseases*, 2005. 11(12): p. 1965-6.
2. Bens, C.C., A. Voss, and C.H. Klaassen, Presence of a novel DNA methylation enzyme in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates associated with pig farming leads to uninterpretable results in standard pulsed-field gel electrophoresis analysis. *Journal of Clinical Microbiology*, 2006. 44(5): p. 1875-6.
3. Guardabassi, L., M. Stegger, and R. Skov, Retrospective detection of methicillin resistant and susceptible *Staphylococcus aureus* ST398 in Danish slaughter pigs. *Veterinary Microbiology*, 2007. 122(3-4): p. 384-6.
4. Khanna, T., et al., Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* colonization in pigs and pig farmers. *Veterinary Microbiology*, 2008. 128(3-4): p. 298-303.
5. Smith, T.C., et al., Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strain ST398 is present in midwestern U.S. swine and swine workers. *PLoS ONE*, 2008. 4(1): p. e4258.
6. Graveland, H., et al. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in veal calf farmers and veal calves in The Netherlands, 2008. *Proceedings of the 1st American Society of Microbiology on Antimicrobial resistance in zoonotic*

- bacteria and foodborne pathogens. Copenhagen, Denmark.
7. Nemati, M., et al., Antimicrobial resistance of old and recent *Staphylococcus aureus* isolates from poultry: first detection of livestock-associated methicillin-resistant strain ST398. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2008. 52(10): p. 3817-9.
 8. De Boer, E., et al., Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in meat. *International Journal of Food Microbiology*, 2008.
 9. Huijsdens, X.W., et al., Community-acquired MRSA and pig-farming. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 2006. 5: p. 26.
 10. Van Duijkeren, E., et al., Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains between different kinds of pig farms. *Veterinary Microbiology*, 2008. 126(4): p. 383-9.
 11. Van den Broek, I.V.F., et al., Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in people living and working in pig farms. *Epidemiology and Infection*, 2009. 137(5): p. 700-8.
 12. Broens, E.M., et al. Transmission of NT-MRSA in the pig production chain in The Netherlands, 2008. *Proceedings of 20th International Pig Veterinary Society Congress*. Durban, South Africa.
 13. De Neeling, A.J., et al., High prevalence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in pigs. *Veterinary Microbiology*, 2007. 122(3-4): p. 366-72.
 14. Harmsen, D., et al., Typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a university hospital setting by using novel software for *spa* repeat determination and database management. *Journal of Clinical Microbiology*, 2003. 41(12): p. 5442-8.
 15. SAS Institute Inc., S.I., *SAS/STAT User's Guide*, V. 9.1, SAS Institute Inc. 2004: Cary, North Carolina.
 16. Hosmer, D. and S. Lemeshow, *Applied Logistic Regression*, John Wiley and sons. 1989, New York.
 17. Noordhuizen, J.P.T.M., et al., *Application of Quantitative Methods in Veterinary Epidemiology*. 1997: Wageningen Pers.
 18. Wertheim H. et al., Low prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) at hospital admission in the Netherlands: the value of search and destroy and restrictive antibiotic use. *Journal of Hospital Infection*, 2004. 56(4): p. 321-5.
 19. Fenner, L., et al., Distribution of *spa* types among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates during a 6 year period at a low-prevalence University Hospital. *Journal of Medical Microbiology*, 2008. 57(Pt 5): p. 612-6.
 20. Van de Giessen, A.W., et al., Occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in rats living on pig farms. *Preventive Veterinary Medicine*, 2009 (in press).
 21. Cuny, C., et al., Clusters of infections in horses with MRSA ST1, ST254, and ST398 in a veterinary hospital. *Microbial Drug Resistance*, 2008. 14(4): p. 307-10.
 22. Broens, E.M., et al. Prevalence study and risk factor analysis of NT-MRSA in pigs in The Netherlands, 2008. *Proceedings of the 1st American Society of Microbiology on Antimicrobial resistance in zoonotic bacteria and foodborne pathogens*. Copenhagen, Denmark.
 23. Juhasz-Kaszanyitzky, E., et al., MRSA transmission between cows and humans. *Emerging Infectious Diseases*, 2007. 13(4): p. 630-2.
 24. Broens, E.M., et al. Genetic comparison of methicillin-susceptible and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from Dutch pig farms, 2008. *Proceedings of the 1st American Society of Microbiology on Antimicrobial resistance in zoonotic bacteria and foodborne pathogens*. Copenhagen, Denmark.
 25. Wagenaar, J.A., et al., Unexpected sequence types in livestock associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): MRSA ST9 and a single locus variant of ST9 in pig farming in China. *Veterinary Microbiology*, 2009.
 26. Witte, W., et al., Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in humans and animals, Central Europe. *Emerging Infectious Diseases*, 2007. 13(2): p. 255-8.
 27. Poljak, Z., et al., Prevalence of and risk factors for influenza in southern Ontario swine herds in 2001 and 2003. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 2008. 72(1): p. 7-17.
 28. Kaneene, J.B., et al., Environmental and farm management factors associated with tuberculosis on cattle farms in northeastern Michigan. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 2002. 221(6): p. 837-42.
 29. Gardner, I.A., P. Willeberg, and J. Mousing, Empirical and theoretical evidence for herd size as a risk factor for swine diseases. *Animal Health Research Reviews*, 2002. 3(1): p. 43-55.
 30. Graham, J.P., et al., Antibiotic resistant enterococci and staphylococci isolated from flies collected near confined poultry feeding operations. *Science of the Total Environment*, 2009. 407(8): p. 2701-10.
 31. Meerburg, B.G., et al., Presence of *Salmonella* and *Campylobacter* spp. in wild small mammals on organic farms. *Applied Environmental Microbiology*, 2006. 72(1): p. 960-2.
 32. Grassly, N.C. and C. Fraser, Mathematical models of infectious disease transmission. *Nature Reviews Microbiology*, 2008. 6(6): p. 477-87.
 33. Beam, J.W. and B. Buckley, Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Prevalence and Risk Factors. *Journal of Athletic Training*, 2006. 41(3): p. 337-40.
 34. Dancer, S.J., The effect of antibiotics on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrobials and Chemotherapy*, 2008. 61(2): p. 246-53.

35. Muller, A., et al., Effect of individual- and group-level antibiotic exposure on MRSA isolation: a multilevel analysis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2006. 58(4): p. 878-81.
36. Broens, E.M., et al., Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from food production animals to humans: a review. *CAB reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, 2008. 3(95): p. published online.
37. Bondt, N., L.F. Puister-Jansen, and R.H.M. Bergevoet, Antibioticagebruik op melkvee-, varkens- en pluimveebedrijven in Nederland. 2009, LEI Wageningen UR: Den Haag.