

ØKOLOGISK KONTROLL AV INFEKSJONSSJUKDOMMAR. ANTIBAKTERIELL EFFEKT AV EIT PH-REGULERANDE MIDDEL TIL BRUK PÅ SPENAR

Innleiing

Økologisk kontroll av infeksjonssjukdommar er å påverka (manipulera) vekstvilkåra i det mikrobiologiske økosystemet i ein slik retning at den sjukdomsframkallande mikrofloraen blir utkonkurrert av den apatogene floraen. Aktuelle økosystem finst i tarmen, på hud og slimhinner, i det ytre miljø for dyr og menneske, og i det miljøet vi produserer og lagrar våre matvarer.

Å dokumentera klinisk effekt av spenedypping eller -spraying er eit omfattande og vanskeleg arbeid. Frå utlandet veit vi at det finst mange publikasjonar om spenedypping. Men resultatata spriker, og det er vanskeleg å bedømme det som føreligg.

Tradisjonell spenedypping er å minska smittepresset ved å ta knekken på flest mogeleg bakteriar på spenen. På denne måten ser det ut til at frekvensen av mastittar forårsaka av *Staphylococcus aureus* går ned, medan tal mastittar av *Escherichia coli* faktisk stig. Det kan synast vanskeleg å forklara dette, men det er to faktorar som er viktige. For det første er *E. coli* vanskelegare å ta knekken på med kjemiske midlar enn *S. aureus*. På hud er dessutan *E. coli* meir utsett for konkurranse frå normalfloraen enn *S. aureus*. Når vi fjernar eller reduserer normalfloraen med spenedypping, vil *E. coli* derfor få betre vilkår for å etablere seg på spenespissen.

Med dette som utgangspunkt er det utvikla eit middel for spenespraying/spenedypping der formålet er å redusera talet på uønskte bakteriar, både ved direkte påvirkning og dessutan ved å styrka normalfloraen/konkurransefloraen. Dette skjer ved å senka pH til i underkant av 4. Deler av normalfloraen på hud trivs godt i eit slikt miljø.

For å finna ut om dette stemmer, har eg derfor valt å sjå på effekt direkte på dei mest aktuelle bakteriane. Som årsak til mastitt er *E. coli*, *S. aureus* og *Streptococcus dysgalactiae* dei mest vanlege, men resultat for desse kan truleg overførast til bakteriegruppene enterobakteriar, stafylokokkar og streptokokkar generelt. Som representant for dei nyttige bakteriane har eg brukt dei som finst i mjølkeproduktet Biola.

Effekt på desse bakteriane av det pH-regulerende midlet har eg derfor testa i samanlikning med andre spenedyppingsmiddel som er i bruk her i landet.

Materiale og metodar

Laboratoriearbeidet er utført ved Veterinærinstituttet i Bergen.

Spenedyppingsmiddel Det pH-regulerande midlet (Optima pH) inneheld organiske syrer og salt, glycerol, alginat, spor av sorbat, aroma, farge og vatn. Det er samanlikna med eit spenedyppingsmiddel som inneheld jod (Nr 1) og to middel som ikkje inneheld jod (Nr 2 og Nr 3).

Metode

Som metode er valt ein variant av "Rutinemessig undersøkelse av bakteriehemmende stoffer i melkeprøver" frå metodesamlinga som blir brukt i mastittdiagnostikken ved Veterinærinstituttet. Med denne metoden påviser vi innhald av antibiotika i mjølk, men det er også ei erfaring at metoden påviser såkalt uspesifikk hemning. I metoden er *Micrococcus luteus* skifta ut med dei bakteriane ein har ønskt å testa.

Testbakteriar

Det er brukt isolater av *E. coli*, *S. aureus* og *Str. dysgalactiae* henta frå prøvemateriale motteke for mastittdiagnostikk ved Veterinærinstituttet i Bergen. Vidare er det brukt bakteriar frå mjølkeproduktet Biola, det vil sei laktobacillar og nærstående bakteriar innan genus *Bifidobacterium*.

Medier og teknikk

For *E. coli* og *S. aureus* er det brukt Mueller Hinton medium. Testkulturen er dels påført skåla i samsvar med metodikk, dels påført overflata med eingongs plastpodenål. Desse teknikkane ser ut til å vera likeverdige.

Streptokokkar er undersøkte på blodagar etter overflateutsæd med podenål.

Bakteriar frå Biola er tatt frå primærutsæd på MRS medium som er eit spesialmedium for laktobacillar. Sidan desse bakteriane veks dårleg på vanleg agar, er MRS også brukt ved dyrking der formålet var å måla

hemningssoner.

På ferdig inokulerte skåler er det laga brønner med diameter 13 mm. I desse brønnane er det overført 2–3 dråpar av det aktuelle dyppemidlet. Etter inkubering ved 37°C i 24 timar er hemningssoner målte som diameter inkludert brønnen.

I tillegg til dyppemidla er det brukt to typar av Neo-Sensitabs resistenstablettar. Desse inneheldt penicillin (Penicillin Low) og trimetoprim+sulfa.

Resultat

Resultata er vist i Tabell I.

Diskusjon

For *E. coli* og *S. aureus* er det gjort samanlikningar med eit par antibakterielle middel som blir brukt ved ordinær resistenstesting. Dette er gjort for å visa ein viss relasjon til hemningssoner som blir registrerte ved antibiotikatesting. Når det gjeld soner, så må ein reservera seg for at desse har vist noko varierende storleik. Dette ser ut til å skriva seg frå ulik mengde agar i skålene.

Dyppemiddel	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Str. dysgalactiae</i>	Laktobacillar
Nr 1	18 mm	25 mm	26 mm	21 mm
Nr 2	0 mm	23 mm	20 mm	23 mm
Nr 3	0 mm	25 mm	16 mm	24 mm
Optima pH	26 mm	32 mm	25 mm	0 mm
Pen Low	0 mm	36 mm		
Trim./sulfa	37 mm			

Av tabellen kan ein sjå at det pH-regulerande midlet etter denne metodikken har god effekt på dei mest vanlege mastittbakteriane, og det kan fullt ut måla seg med dei mest brukte spenedyppemidla. Det er forresten overraskande at to av desse ikkje har målbar effekt på *E. coli* med denne metoden. På laktobacillar/bifidobakteriar har det pH-regulerande midlet ingen målbar effekt. Dette er ein ønskjeleg eigenskap som ingen av dei andre dyppemidla har.

Nå kan det sikkert diskuteras om denne metoden er “rettferdig” vis a vis dei ulike midla. Det som er sikkert, er at metoden ikkje er spesielt tilpassa for det pH-regulerande midlet. Grunnen til dette er pH og bufferkapasitet i media. Blodagar har pH 7,4, Mueller Hinton 7,4, og MRS 6,5. Dei har dessutan betydeleg buffereffekt. Det pH-regulerande midlet, som har sin antibakterielle effekt via organiske syrer, skulle derfor i større grad enn dei andre bli skadelidande av den nøytraliseringa som vil skje i mediet.

Konklusjon

Undersøkinga viser at det pH-regulerande midlet har den tilsikta effekten på bakteriane. Midlet er “snilt” mot “dei gode” bakteriane og gjer livet “surt” for “problembakteriane”.

Magne Skjervheim

Norsk Veterinærtidsskrift 1998, 110, 6

Tillegg til rapporten:

Hemningssoner for andre bakteriar og sopp.

- *Streptococcus canis* 22 mm☒
- *Staphylococcus intermedius* 31 mm☒
- *Proteus* 25 mm☒
- *Klebsiella* 25 mm☒
- *Pseudomonas aeruginosa* 28 mm☒
- *Candida* (Gjæringsopp) 18 mm☒
- *Malassezia* (Flaskeopp) 24 mm☒