

Bärarskap av meticillinresistent *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) hos svenska hundar

Carriage of meticillin resistant Staphylococcus pseudintermedius (MRSP) in Swedish dogs

Elin Reimegård

Handledare: Gunilla Trowald Wigh

Institutionen för kliniska vetenskaper, SLU

Biträdande handledare: Ulrika Windahl

Enhet för djurhälsa och antibiotikafrågor, sekt häst, hund och katt, SVA

Biträdande handledare: Ulrika Grönlund Andersson

Enhet för djurhälsa och antibiotikafrågor, sekt antibiotikafrågor, SVA

**Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och
husdjursvetenskap
Veterinärprogrammet**

**Examensarbete 2008:66
ISSN 1652-8697
Uppsala 2009**

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Tack	6
Ordlista.....	7
Sammanfattning.....	8
Abstract.....	8
Inledning	9
Syfte	11
Bakgrundsfakta	11
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	11
Vad utmärker en meticillinresistent <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> (MRSP)?	11
MRSP och MRSA.....	13
Bärarskap och transient bärarskap	13
Betalaktamer	14
Hur sprids och etableras MRSP?	14
Antibiotikaanvändning i Sverige	16
Material och metoder	16
Material.....	16
Provtagningsmetod	17
Metod	17
Resultat	19
Rådata	19
Bärarskap	20
Tidsaspekten	20
Lokalisation	20
Klinik	21
Diagnos	21
Kliniska symptom	21
Stationärvård.....	22
Kön, ras och ålder	22
Antibiotikabehandling	22
Behandlingsstatistik	22
Behandlingstider	23
Tetracyklinbehandling	23
Diskussion.....	23
Varför är vissa diagnoser mer vanliga än andra?.....	25
Kliniska symptom och bärarskap.....	25
Djursjukhus som potentiella smittreservoarer	26
MRSP - ett nytt problem för djursjukvården?	26
Antibiotikabehandling och resistensutveckling	27
Antibiotikapolicy	28
MRSP en potentiell zoonos.....	28
Avgränsningar och felkällor	28
Konklusion.....	29
Framtida forskning.....	29
Litteraturförteckning.....	30
Bilagor	32
Bilaga 1	32
Bilaga 2	38

“It is not difficult to make microbes resistant to penicillin in the laboratory by exposing them to concentrations not sufficient to kill them, and the same thing has occasionally happened in the body. The time may come when penicillin can be bought by anyone in the shops. Then there is the danger that the ignorant man may easily underdose himself and by exposing his microbes to non-lethal quantities of the drug make them resistant.”

Alexander Flemings nobeltal den 11 december 1945

TACK

Först och främst tack till mina tre fantastiska handledare! Tack Gunilla Trowald-Wigh för din ständiga entusiasm för ämnet och för att du alltid har backat upp mig, tack Ulrika Grönlund-Andersson för ditt stora kunnande och danska smörrebröd i Stockholm och tack till Ulrika Windahl för dina ljuvliga skratt och dina (hittills!) 62 mail för att besvara alla mina frågor eller bara för att heja på mig. Ett varmt tack till Kerstin Ekström som med stort tålamod och omsorg har hjälpt mig med laboratedelen av det här projektet.

Jag vill även rikta ett stort tack till alla djursjukhus och veterinärer ute i landet som ställt upp med lokaler, journaler och provtagningar. Sist men inte minst, tusen tack till alla djurägare och hundar som har ställt upp och gjort den här studien möjlig!

Uppsala
2008-12-09

ORDLISTA

MRSI	Meticillinresistent <i>Staphylococcus intermedius</i> - en tidigare benämning på MRSP.
MRSP	Meticillinresistent <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> . Benämndes tidigare som MRSI på hund och är <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> med ett förändrat ytprotein (PBP-2a) som betalaktamer har mycket låg affinitet för.
MRSA	Meticillinresistent <i>Staphylococcus aureus</i> är även den en stafylokock och har samma genetiska förändring som MRSP vilket gör den okänslig för betalaktamer. Orsakar problem framför allt inom humansjukvården.
Multiresistens	Resistens mot tre eller fler antibiotikagrupper.
Meticillinresistens	Resistens mot all antibiotika tillhörande gruppen betalaktamer. Resistensen är orsakad av en gen (<i>MecA</i>) som uttrycker ett förändrat ytprotein (PBP-2a).
Betalaktam	Antibiotika med betalaktamring, exempelvis penicilliner och cefalosporiner.
<i>MecA</i>	Den gen som uttrycker PBP-2a (se ovan).
Resistensfenotyp	Ett resistensmönster som en bakterie uttrycker vid <i>in vitro</i> -tester.
MIC	Minsta inhiberande koncentration. Den minsta koncentration av ett antibiotikum som krävs för att hämma tillväxt av en bakterie.
Bredspektrumantibiotika	Ett relativt odefinierat begrepp men med det menar man antibiotika med effekt mot ett brett spektrum av bakterier.

SAMMANFATTNING

De senaste åren har ett ökat antal fall av infektioner orsakade av meticillinresistenta *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) drabbat hundar i Sverige. MRSP är resistent mot en stor del av de antibiotika som används till hundar i Sverige idag, något som gör den svårbehandlad om en infektion tillstöter. Vår kunskap om bakterien har varit begränsad och detta har gjort hanteringen av smittade hundar svår. Syftet med studien var att undersöka hur länge hundar som haft en infektion orsakad av MRSP (meticillinresistent *Staphylococcus pseudintermedius*) blir bärare av bakterien. Vi tittade även på andra faktorer i samband med smitta såsom antibiotikabehandling, korrelation mellan kliniska symptom och bärarskap, vanliga diagnoser samt stationärvårdsbehandling. Med ökad kunskap om hur bakterien beter sig kan hantering i samband med besök på djursjukhus och rådgivning till djurägare förbättras.

Bakterieprover togs från 23 svenska hundar med tidigare känt bärarskap av MRSP. Prover togs vid två upprepade tillfällen från fyra olika lokalisationer på hunden; nos, perianalt, svalg samt infekterat område på hunden, och om inget sådant fanns togs provet från mungipan. Odling, typning och resistensbestämning utfördes enligt vald metod på SVA (Statens Veterinärmedicinska Anstalt). Oxacillinresistenta kolonier testades indirekt för förekomst av *mecA*-genen med hjälp av latexagglutination. De som var positiva benämndes som en MRSP.

Av de hundar som provtogs en till fem månader från det att MRSP påvisats första gången var närmare 86 % positiva. Bland de hundar som provtogs sex till tretton månader från det att MRSP påvisats första gången testades ca 77 % negativa. MRSP påvisades i studien som längst hos en hund 12 månader efter att den diagnosticerades första gången. Samtliga hundar hade blivit behandlade med antibiotika inom tre månader före det att MRSP påvisades första gången. Inget samband mellan kliniska symptom och smitta kunde påvisas. Bland de hundar som ingick i studien kunde framför allt två diagnoser urskiljas; operationskomplikationer och pyodermier (hudinfektioner). Alla hundarna hade besökt veterinärkliniker och 16 av 23 hundar hade stationärvårdsbehandlats i mer än två dagar före påvisande av MRSP.

Skärpta hygienrutiner, utökad bakteriell provtagning med resistensbestämning och minskad antibiotikaanvändning är åtgärder som måste införas för att förebygga selektion och spridning av MRSP.

ABSTRACT

During the last years, an increasing number of meticillin resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) have caused infections in Swedish dogs. MRSP is resistant against a majority of the antimicrobials that are used on dogs in Sweden, making it difficult to treat if an infection set in. Our knowledge of the bacterium is limited, making it hard to handle infected dogs in a proper way. The aim of this study was to investigate for how long time dogs, who have an infection caused by MRSP, become carriers of the bacterium. Other factors like treatment with antimicrobials, the correlation between clinical symptoms and carriage, common diagnoses and institutionalization where also looked upon. Increased knowledge in this field will improve the handling of patients and the advises to owners.

Bacterial swabs were sampled from 23 Swedish dogs with known carriage of MRSP. Samples were collected on two occasions from four different locations: the nose, around anus, the pharynx and from any infected area on the dog. If the dog was asymptomatic, samples were instead taken from lip commissures. Culturing and identification and antimicrobial susceptibility tests were carried out in compliance with chosen method. Oxacillin resistant colonies were indirectly tested for the presence of the *mecA* gene with latex agglutination and this is used to confirm it as a MRSP.

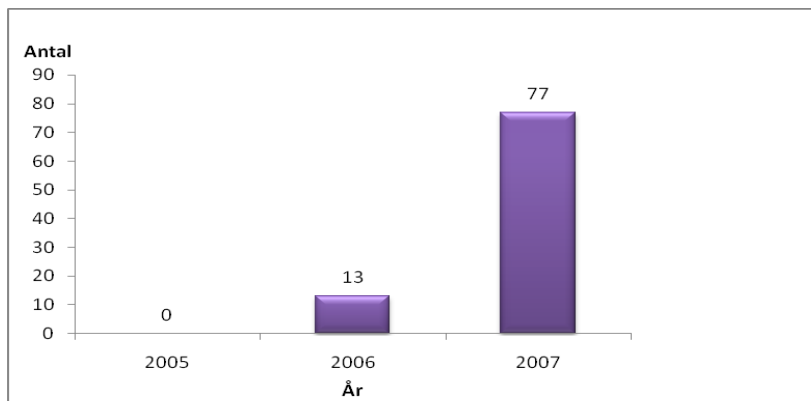
Among the 23 dogs that were sampled, almost 86 % were still positive within one to five months time. After six to thirteen months, almost 77 % of the dogs were sampled negative for MRSP. MRSP was isolated from one dog 12 months after it was first diagnosed. All of the dogs had been treated with antimicrobials within three months prior to MRSP culture. Among the dogs that tested positive for MRSP both dogs with and without clinical symptoms of infections were found. Above all, two diagnoses were prominent in the study; post operative wound infections and pyoderma. All of the dogs had been treated at veterinary clinics and 16 of 23 dogs had been hospitalised more than two nights.

Rigorous hygiene routines are imperative in preventing spread of infection. Diminished use of antimicrobials and increased bacterial sampling, including resistance patterns, are further steps essential in reducing the selection for MRSP.

INLEDNING

Staphylococcus pseudintermedius (tidigare *Staphylococcus intermedius*) är en av hundens vanligaste hudbakterier och har vid ett försök isolerats från huden hos en majoritet (65 %) av friska hundar (Holm et al., 2002). *Staphylococcus pseudintermedius* är en opportunistisk patogen som kan orsaka pyodermi, endometrit, cystit, otitis externa och andra suppurativa tillstånd hos hund (P.J. Quinn, 2002). Spridning av bakterien kan ske via direktkontakt, aerosol, hosta och även via saliv (Malik et al., 2005). En klon av *Staphylococcus pseudintermedius* med en förvärvad resistens mot en majoritet av de antibiotika som används inom veterinärmedicinen idag, har de senaste åren spritt sig i Sverige (SVARM, 2007). Bakterien benämns meticillinresistent *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP).

MRSP påvisades för första gången 2006 hos en svensk hund (Zwenson, 2007) och ytterligare fall skulle isoleras från svenska hundar samma år. Totalt 13 isolat gjordes i Sverige år 2006, samtliga isolerades från postoperativa sår (SVARM, 2006). År 2007 var siffran uppe i 77 isolat (SVARM, 2006) (se Figur 1).



Figur 1. Antal rapporterade fall av MRSP 2005-2007 (SVARM 2007).

MRSP återfinns idag hos hundar över stora delar av världen (van Duijkeren et al., 2008, Sasaki et al., 2007, Wettstein et al., 2008). Ett antal studier har gjorts där *Staphylococcus pseudintermedius* påvisats även hos människor (Guardabassi et al., 2004, Royston Goodacre, 1997a, van Duijkeren et al., 2008). Det faktum att även människan kan bära bakterien är något som gör den än mer oroväckande ur smittskyddsaspekt. Inom humanvården har man länge kämpat mot antibiotikaresistenta bakterier. Meticillinresistent *Staphylococcus aureus* (MRSA), även kallad "sjukhussjukan" kan nämnas som ett känt exempel. MRSA är en bakterie som orsakar ökad dödlighet och ökat lidande för patienten samt stora kostnader för sjukvården. (OIE, 2006).

Eftersom antibiotika är ett läkemedel med god effekt och relativt få biverkningar har användandet hittills varit omfattande. Vi ser idag en ökad mängd antibiotika som skrivs ut till hund (Pettersson 2007). Mellan 1996-2007 ökade antalet antibiotikarecept som skrevs ut till hund med 38 % och bland dessa utgjorde bredspektrumantibiotika närmare hälften (Pettersson 2007). Detta är alarmerande siffror eftersom användning av antibiotika, i synnerhet bredspektrumantibiotika, leder till selektion av antibiotikaresistenta bakterier (Holm et al., 2002).

I Sverige sker en kontinuerlig övervakning av det svenska resistensläget för såväl djur som människor. SVA (Statens Veterinärmedicinska Anstalt) kommer årligen ut med en rapport över det svenska läget beträffande antibiotikaresistens och förbrukningen av antibiotika till djur: SVARM (Swedish Veterinary antimicrobial resistancy monitoring) (www.sva.se). Inom humanvården finns ett samverkansorgan med syfte att hantera frågor rörande antibiotikaanvändning: STRAMA (Strategigruppen för Rationell Antibiotikaanvändning och Minskad Antibiotikaresistens) (www.strama.se).

När MRSP konfirmerats hos ett djur väcks flera frågor hos både veterinärer och djurägare. Bland annat undrar många när hunden kan sägas vara frisk. Inga studier på bärarskap över tid har tidigare utförts och det var med denna bakgrund som studien utfördes.

Studien är gjord som ett samarbete mellan SLU (Sveriges lantbruksuniversitet) och SVA - enhet för djurhälsa och antibiotikafrågor.

Syfte

Syftet med studien var att, undersöka hur länge en hund som vid bakteriell provtagning visat sig vara positiv för MRSP förblir bärare av bakterien.

Andra faktorer som också undersöktes var:

- Om hundarna som ingick i studien hade blivit behandlade med antibiotika
- Vilka de vanligaste diagnoserna bland de smittade hundarna var
- Om det finns samband mellan kliniska symptom och bärarskap
- På vilka provtagningslokaliseringer som bakterien oftast påvisas hos en positiv hund
- Om hundarna som var med i studien hade varit stationärvårdsbehandlade

BAKGRUNDSFAKTA

Staphylococcus pseudintermedius

Staphylococcus intermedius beskrevs första gången 1976 och typningen av bakterien byggde på material som insamlats från flera olika djurslag: duva, hund, mink och häst. Fram till år 2005 skiljde man inte på arternas stammar men med nya metoder har man visat att det man tidigare benämnt som *Staphylococcus intermedius* i själva verket består av flera olika stammar och att hundens och duvans bakterie skiljde sig från varandra. Det som tidigare hette *Staphylococcus intermedius* hos hund benämns numera som *Staphylococcus pseudintermedius* medan duvans stafylokock fortfarande benämns som *Staphylococcus intermedius*. (Devriese et al., 2005, Devriese et al., 2008). Som alltid tar det tid innan namnbyten slår igenom och ofta benämns *Staphylococcus pseudintermedius* som *Staphylococcus intermedius*, men detta bör alltså i det här arbetet tolkas som samma bakterie.

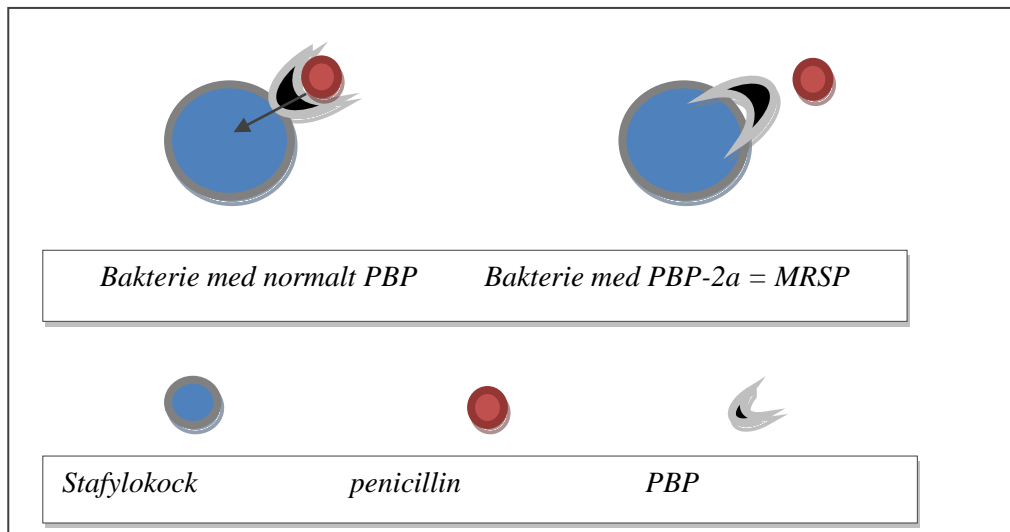
Inga studier har än så länge påvisat någon skillnad i patogenicitet mellan en meticillinresistent *Staphylococcus pseudintermedius* och *Staphylococcus pseudintermedius*.

Vad utmärker en meticillinresistent *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP)?

Meticillinresistens ska inte, som ofta sker, förväxlas med multiresistens. Multiresistens har beskrivits som resistens mot tre eller fler antibiotikagrupper (Holm et al., 2002). Meticillin är ett penicillinasstabilt penicillin och meticillinresistens läses som en okänslighet mot antibiotika tillhörande gruppen betalaktamer. Dock är MRSP oftast både meticillinresistent och multiresistent (SVARM 2007).

MRSP har en genetisk förändring som gör den okänslig för samtliga antibiotika tillhörande gruppen betalaktamer. Detta innebär att en stor mängd av de antibiotika som idag används inom veterinärmedicinen är överksam (se stycke om ”antibiotikaanvändning i Sverige”).

PBP (penicillinbindande protein) är ett protein som penicillin binder till för att kunna angripa bakterien och påverka dess cellväggssyntes. Till skillnad från *Staphylococcus pseudintermedius* har MRSP en gen (*mecA*) som uttrycker ett förändrat protein, PBP-2a, som leder till att betalaktamer inte kan binda in till bakterien och angripa den. Man kan förenklat säga att MRSP har bytt ut låset som betalaktamer hade nyckeln till (se Figur 2). För att kunna diagnosticera en MRSP måste *mecA*-genen påvisas, detta görs direkt via PCR eller indirekt via latexagglutination (se förklaring av metod för latexagglutination under ”material och metod”).



Figur 2. Schematisk bild som beskriver hur bakterier med *mecA* gen uttrycker ett förändrat PBP (penicillinbindande protein) som heter PBP-2a. Detta gör att penicillin inte kan binda in till den och angripa bakterien (författarens egen illustration).

I Sverige idag har vi i huvudsak en klon (bakterier med gemensamt ursprung) av MRSP som har spridit sig (SVARM 2007). Den är resistent mot en majoritet av de veterinärmedicinska läkemedel vi har idag och uppvisar endast känslighet mot tetracyklin och fusidinsyra (SVARM 2007) (se Tabell 1). Detta är orsaken till att den är så svårbehandlad.

Tabell 1. Fenotypiskt resistensmönster för den svenska klonen av meticillinresistent *Staphylococcus pseudintermedius* (SVARM 2007).

Antibiotika	MIC (mg/L)	S/R*
Penicillin	>4	R
Cefalotin	>8	R
Cefoxitin	8	R
Oxacillin (+ 2% NaCl)	>16	R
Erytromycin	>32	R
Kloramfenikol	64	R
Clindamycin	>32	R
Tetracyklin	≤0.5	S
Fusidinsyra	0.25	S
Gentamicin	32	R

Kanamycin	>32	R
Ciprofloxacin	>4	R
Trimetoprim	>32	R

*S = känslig R= resistent

MRSP och MRSA

Humanvården har under ett antal år haft problem med ett flertal antibiotikaresistenta bakterier, däribland MRSA (meticillinresistent *Staphylococcus aureus*) som orsakar den så kallade "sjukhussjukan". MRSA rapporterades första gången 1961 strax efter att meticillin hade introducerats (OIE, 2006) och är i Sverige klassad som en allmänfarlig och anmälningspliktig sjukdom. Svårbehandlade infektioner med ökad dödlighet och lidande för patienterna, samt ökade ekonomiska kostnader för sjukhusen är stora problem som bör diskuteras när man pratar om meticillinresistenta bakterier.

Många likheter finns mellan MRSP och MRSA. Båda är stafylokocker och tillhör normalfloran hos sina värddjur (hunden och människan). Båda är bärare av samma gen som gör dem okänsliga för antibiotika tillhörande gruppen betalaktamer – *mecA*. Bakterierna orsakar i sig själv sällan sjukdom men om hudens barriär skadas kan de orsaka infektion och genom sin resistens vara svårbehandlad.

Det kan vara värdefullt att göra den här jämförelsen mellan MRSP och MRSA eftersom humanvården har en lång erfarenhet av hantering av MRSA-patienter och många av de åtgärder och rutiner som tillämpas för MRSA kan användas inom veterinärvården.

MRSA har vid flera tillfällen påvisats hos hund, även i Sverige (Hanselman et al., 2008, Boost MV, 2007, SVARM, 2007). Sommaren 2008 diagnosticerades sex hästar med MRSA på djursjukhuset i Uppsala (www.sva.se). MRSP har påvisats hos människa (Royston Goodacre, 1997a, Van Hoovels et al., 2006) så smitta över artgränserna har skett men det är viktigt att påpeka att bakterien är relativt värdspecifik (Frank M. Aarestrup, 2006). Detta innebär att människan inte lätt smittas av hundens bakterie även om detta i sällsynta fall har rapporterats.

Bärarskap och transient bärarskap

Inom humanvården skiljer man mellan bärarskap och transient bärarskap. I en rapport från socialstyrelsen 2007 har man satt upp kriterier för att skilja en transient bärare (MRSA-kontamination) från MRSA-bärare (MRSA-kolonisation).

Kriterier för bärarskap enligt socialstyrelsens rapport från 2007:

- *De som har eller har haft infektion som orsakats av MRSA.*
- *De som har ett positivt MRSA-prov från en hudlesion eller perineum, även om individen bara varit positiv vid ett tillfälle.*
- *De som har haft positivt MRSA-prov vid mer än ett tillfälle, oavsett provtagningsställe och hur många provtagningsställen som är positiva.*

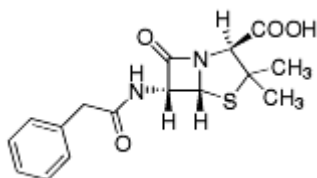
Kriterier för transient bärarskap enligt socialstyrelsens rapport från 2007:

- *Person utan anamnes på tidigare MRSA-infektion med positivt MRSA-prov i näsa och/eller svalg vid ett enstaka tillfälle, och negativa prover vid uppföljande MRSA-provtagning.*

Än så länge finns det inga kriterier för smittfrihet, varken för hundar eller för människor. Socialstyrelsen har för människor med infektion med MRSA fastslagit att efter 12 månaders negativitet i provtagningar bör en ny bedömning göras. (Socialstyrelsen, 2006).

Betalaktamer

Den aktiva beståndsdel hos antibiotikagruppen betalaktamer är betalaktamringen (se Figur 3). Till gruppen betalaktamer hör penicilliner och cefalosporiner. Förenklat kan man säga att betalaktamringen binder in till bakterien och påverkar dess cellväggssyntes vilket gör att bakteriens cellvägg blir känsligare och lättare lyserar (spricker) (H.P. Rang, 1999). En stor del av de veterinärmedicinska preparaten som används idag tillhör gruppen betalaktamer.



Figur 3. Betalaktamring Källa: FASS

Penicillin isolerades för första gången av Fleming år 1929 och har senare fått namnet penicillin G eller bensylpenicillin. En majoritet av stafylokockerna utvecklade tidigt (under 1940-talet) ett försvar mot penicillin genom att bilda betalaktamas (tidigare penicillinaser). Betalaktamas är ett enzym som binder in och hydrolyserar betalaktamringen så att penicillinet blir overksam (Christopher K. Mathews, 2000). Man kan jämföra det med en sax som klipper upp och inaktiverar antibiotikamolekylen. Idag är 84 % av de svenska isolaten av *Staphylococcus pseudintermedius* betalaktamasproducerande (SVARM, 2007). Genom att på olika sätt modifiera penicillinet kunde man förhindra att betalaktamas kom åt betalaktamringen och då kunde penicillinet utöva sin verkan. Dessa penicilliner benämns penicillinastabila penicilliner. Det första penicillinastabila penicillinet var meticillin (som testsubstans används idag oxacillin). Meticillinresistens kan misstänkas när en stafylokock är resistens mot oxacillin eller någon cefalosporin. Vidare tester för att påvisa *mecA*-genen bör då genomföras och först då benämns bakterien som en MRSP.

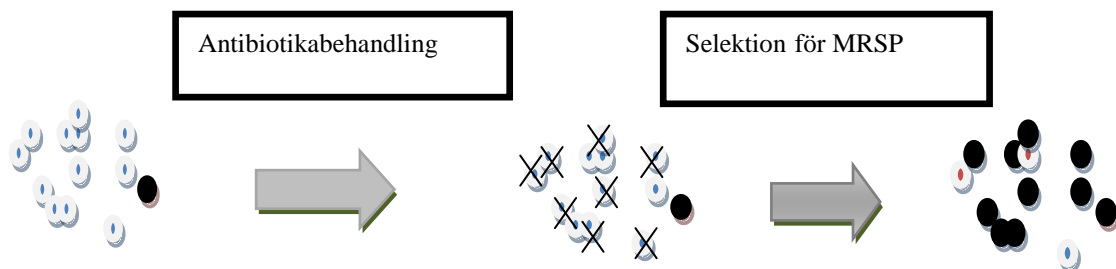
Hur sprids och etableras MRSP?

Staphylococcus pseudintermedius är som tidigare nämnts en hudbakterie och sprids via direkt eller indirekt kontakt (Frank M. Aarestrup, 2006). Smitta kan ske genom direktkontakt från ett djur som bär på MRSP till ett friskt djur, men det kan även ske indirekt via människor eller omgivning som blivit kontaminerade av MRSP-bakterier (van Duijkeren et al., 2008). För att MRSP skall kunna etablera sig på ett djur måste förutsättningarna på det djuret vara gynnsamma för bakterien

och man har sett samband mellan antibiotikaanvändning och selektion för antibiotikaresistenta bakterier (Malik et al., 2005, Holm et al., 2002).

I en studie, gjord i Sverige mellan åren 1995-1996 tittade en grupp veterinärer på hundar som sökte veterinärvård för pyodermi. Man delade upp gruppen i förstagångspyodermier och återfallspatienter. Av de hundar som sökte vård för första gången hade 20 % multiresistenta stafylokker medan de som var återfallspatienter hade 45 % multiresistenta bakterier (Holm et al., 2002). Författarna drar slutsatsen att den ökade resistensen beror på det selektionstryck som tidigare behandling med antibiotika har utgjort.

Som ett exempel på detta kan en hund som blir opererad användas. Om ett djur som opererats kontamineras med MRSP och behandlas med antibiotika så är det företrädesvis de bakterier som är resistenta mot den valda antibiotikan som överlever och får chans att föröka sig (se Figur 4). Där har antibiotikan slagit ut känsliga bakterier och genom behandlingen har man selekterat fram de bakterier som är okänsliga, exempelvis MRSP, som får chans att växa till. Särskilt effektiv blir denna selektion om ett bredspektrumantibiotikum används som slår ut både gramnegativa och grampositiva bakterier.

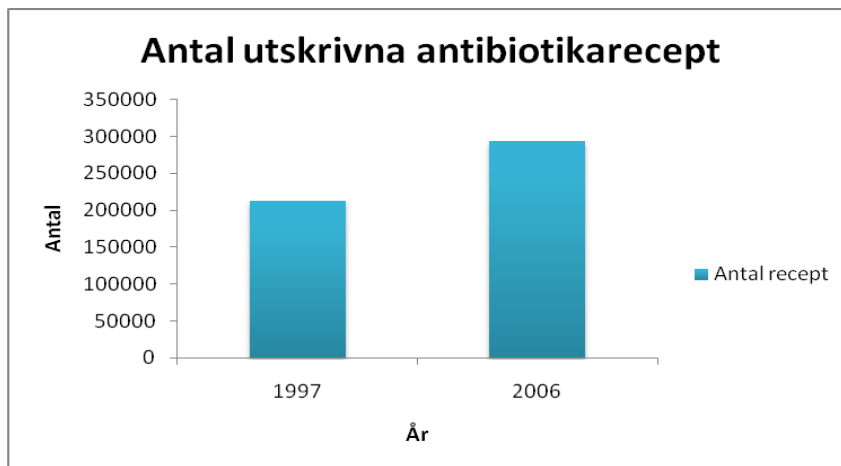


Figur 4. Genom antibiotikabehandling kan man selektera fram antibiotikaresistenta bakterier. Svart prick = MRSP, vit prick = övriga bakterier. (Författarens egen illustration).

Veterinärkliniker utgör riskinstanser på grund av sitt höga patienttryck, sin höga antibiotikaanvändning och det faktum att många djur är allmänt nedsatta när de befinner sig där. Molekylärbiologisk typning samt det faktum att majoriteten av de fall av MRSP som påvisats i Sverige har liknande resistensfenotyp (se Tabell 1) tyder på att det är samma klon som har spridit sig i hela landet (SVARM, 2007). Man pratar om en klonal spridning av MRSP och detta talar ytterligare för det faktum att det är via smitta och inte via exempelvis mutation som MRSP spridit sig.

Antibiotikaanvändning i Sverige

Försäljningen av antibiotika till hundar och katter har ökat de senaste 10 åren (Pettersson, 2007). För hundar har antalet antibiotikarecept för systemiskt bruk ökat från 212 960 recept år 1997 till 293 573 stycken år 2006, en ökning med 38 % (se Figur 5).



Figur 5. Försäljningen av antal antibiotikarecept till hund år 1997 jämfört med år 2006 - en ökning med 38 %.

Även om man tar hänsyn till en växande hundpopulation räcker inte det för att förklara den ökning som ses. I studien av Pettersson (2007) lyfts faktorer som mer avancerad djursjukvård, ökat antal försäkrade djur, högre social status samt ett ökat utbud av produkter på marknaden fram som förklaringar till ökningen. Av det totala antalet antibiotika som såldes till hund utgjorde andelen betalaktamer ca 67 %.

Det finns idag inget veterinärmedicinskt preparat tillhörande gruppen penicillin V/G (smalspektrumantibiotika) (www.fass.se) vilket kan vara en förklaring till att det används så lite.

MATERIAL OCH METODER

Material

Bakterieprover togs från totalt 23 hundar med diagnostiserad infektion med MRSP. Ingen särskild selektion för diagnos, kön, ålder eller ras gjordes. Djurägarna kunde när som helst välja att avbryta studien. Proverna togs av veterinärer eller EEF-student under perioden april-december 2008, antingen i hundens hemmiljö eller på djurklinik. Prover insamlades från regionerna runt Uppsala, Stockholm, Helsingborg, Malmö och Härnösand. Etiskt tillstånd söktes och gavs för studien av Uppsala djurförsöksetiska nämnd, diarienummer 35-6018/03. Provtagningen var gratis för djurägarna och resultatet meddelades skriftligt.

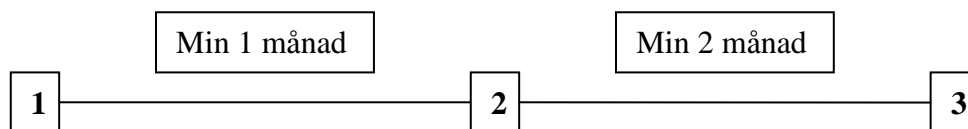
Målet var att ta totalt tre provtagningar från varje hund (se Figur 6).

Första provtagningen benämns den provtagning som klinikern gjorde och som påvisade MRSP hos hunden för första gången. Detta är ett inklusionskriterium för studien. I denna grupp ingick 23 hundar.

Andra provtagningen gjordes minst en månad efter det att ett bakterieprov påvisat MRSP hos hunden. I den här gruppen ingick 23 hundar

Tredje provtagningen gjordes minst två månader efter att andra provtagningen gjorts. I den här gruppen ingick 14 hundar. Bortfallet berodde på att tre hundar hade blivit avlivade, att två djurägare var svåra att nå samt att fyra hundar inte hann med att provtas en tredje gång innan projektet avslutades.

Andra och tredje provtagningen benämns tillsammans som uppföljande provtagningar.



Figur 6. Schematisk bild över provtagning ett, två och tre. Författarens illustration.

I samband med provtagningen ombads djurägaren svara på frågor bland annat beträffande hundens kliniska symptom och tidigare medicinering (se bilaga 1).

Provtagningsmetod

Proverna togs med sterila culturetter (Sarstedts *sterile transport swab*, amies medium) som är lämpade för odling av aeroba och anaeroba bakterier, från fyra olika lokaliseringer på hunden.

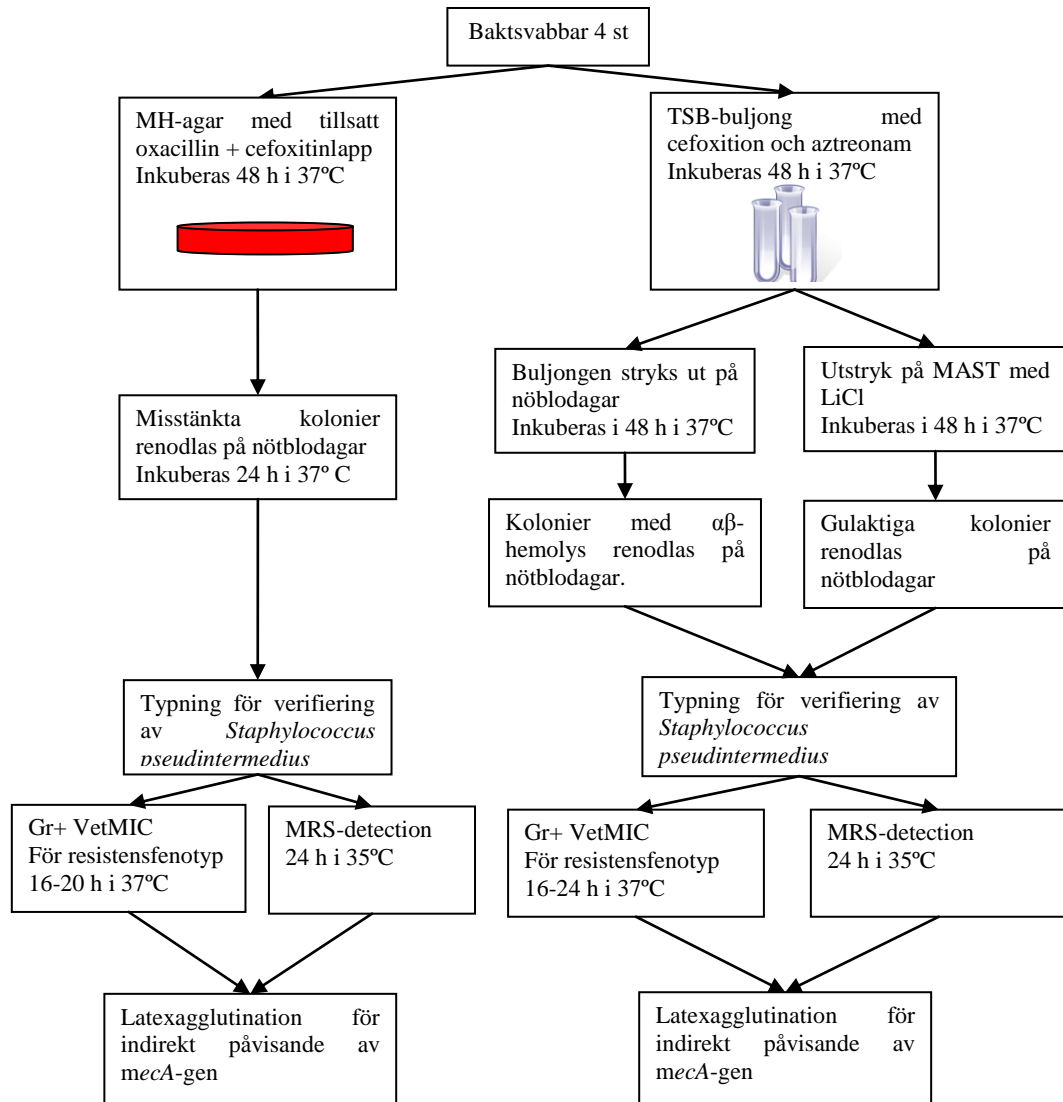
1. Nos – i näsborren samt i området för nosvinkeln
2. Svalg – i den mån det var möjligt, annars byttes det ut mot munslemhinna
3. Perianalt – området runt anus samt ca 0,5 cm in i rektum
4. Infektion (exempelvis otit eller sår) och om sådant inte fanns togs istället prov från mungipan i övergången mellan slemhinna och hud.

Proverna förvarades i kylskåp över natten om de togs kvällstid, annars skickades de via post till SVA för analys.

Metod

Metoden vald enligt (Busscher JF, 2006).

Proverna lämnades in för odling, typning, resistensbestämning och indirekt påvisande av *mecA*-genen på antibiotikalab, SVA. Nedan följer en schematisk bild över metoden (se Figur 7). (Se även närmare metodbeskrivning i bilaga 2).



Figur 7. Schematisk bild över metoden som användes (författarens egen illustration), för närmare beskrivning se Bilaga 2.

RESULTAT

Rådata

I Tabell 2 presenteras en sammanställning av en del av rådata som studien bygger på. Här kan man för varje hund följa utfallet för provtagning 1 (som påvisade MRSP för första gången), provtagning 2 (som skedde minst en månad efter provtagning 1) och provtagning 3 (som skedde minst två månader efter provtagning 2). Man kan även för varje hund läsa ut vilken diagnos hunden hade, ifall den har varit behandlad med antibiotika i samband med provtagning och huruvida den hade kliniska symptom vid provtagningstillfället.

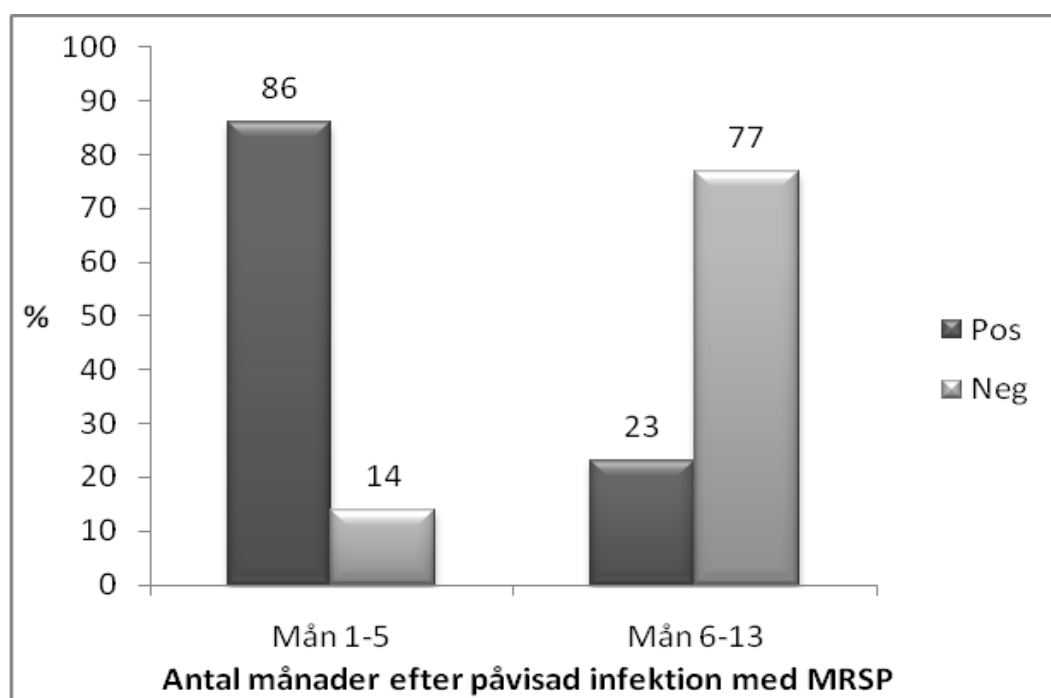
Tabell 2. Presentation av rådata. MRSP + = positiv, - = negativ, AB = antibiotikabehandling inom 3 månader före respektive provtagning, Inf= infektion vid provtagningstillfället, tid = tid i månader från det att MRSP påvisades första gången, UTGÅR = hunden har av olika anledningar utgått ur studien (se orsaker under "material och metod").

Hund	Diagnos	Provtagning 1			Provtagning 2			Provtagning 3				
		MRSP	AB	Inf	Tid	MRSP	AB	Inf	Tid	MRSP	AB	Inf
1	Pyodermi	+	+	+	5	+	-	+	12	+	-	-
2	Pyodermi	+	+	+	4	+	-	-	-	UTGÅR		
3	Operationssår	+	+	+	5	+	-	-	9	-	-	-
4	Pyodermi	+	+	+	7,5	+	+	+	11	-	+	+
5	Operationssår	+	+	+	6	-	-	-	-	UTGÅR		
6	Circumanalfistel	+	+	+	6	+	-	-	11	-	-	-
7	Operationssår	+	+	+	1,5	-	-	-	6	-	-	+
8	Pyodermi	+	+	+	1,5	+	+	-	5,5	+	-	-
9	Pyodermi	+	+	+	8	-	-	-	13	-	-	+
10	Pyodermi	+	+	+	6	-	+	-	10,5	+	-	+
11	Pyodermi	+	+	+	9	-	+	-	-	UTGÅR		
12	Operationssår	+	+	+	2,5	+	+	+	5	+	-	-
13	Operationssår	+	+	+	2	-	+	-	6	-	-	-
14	Operationssår	+	+	+	2	+	+	-	6	-	-	-
15	Nosseekret	+	+	-	2	-	+	+	-	UTGÅR		
16	Urin	+	+	+	3	+	+	-	5,5	+	-	-
17	Operationssår	+	+	+	5,5	+	-	-	-	UTGÅR		
18	Operationssår	+	+	+	1,5	+	-	-	-	UTGÅR		
19	Operationssår	+	+	+	4	+	+	-	-	UTGÅR		
20	Operationssår	+	+	+	1	+	-	+	-	UTGÅR		
21	Sårinfektion	+	+	+	2	+	-	+	4	Ej klar	-	-
22	Nosseekret	+	+	+	2	+	-	+	4	+	-	-
23	Sårinfektion	+	+	+	4	+	-	-	0	UTGÅR		

Bärarskap

Tidsaspekten

Vid de uppföljande provtagningar som skedde under månad 1 till 5 odlades 17/20 (86 %) av hundarna positiva för MRSP och 3/20 (14 %) var negativa. Vid de uppföljande provtagningar som skedde under månad 6 till 13 var andelen positiva hundar 4/15 (23 %) och andelen negativa var 11/15 (77 %) (se Figur 8).



Figur 8. Andelen positiva respektive negativa hundar som provtogs under månad 1-5 samt månad 6-13 uttryckt i procent.

I studien påvisades en hund som var positiv för MRSP vid provtagning 12 månader efter att det först påvisats (se Tabell 2, hund nummer 1). En hund var negativ vid andra provtagningen efter 6 månader, men testades positiv vid tredje provtagningen efter 10,5 månader (se Tabell 2, hund 10). Av de hundarna som var negativa vid provtagning kan två tidsintervall urskiljas. Dels en grupp som var negativa inom 1-2 månader (se Tabell 2, hund nr 7, 13 och 15) efter att MRSP påvisats samt övriga som var negativa efter 6 månader (se Tabell 2 hund nr. 3, 4, 5, 6, 9, 10, 11, 14).

Lokalisation

Bakterieprover togs från fyra olika lokalisationer på hunden vid uppföljande provtagning (provtagning två och tre). Flera lokalisationer valdes för att öka chanserna för att fånga upp bakterien hos en MRSP-positiv hund. De hundar som var positiva kunde vara det för en eller flera provtagningslokaliseringer. I Tabell 3 presenteras hur ofta MRSP påvisades för just den lokaliseringen hos en positiv bärare. Tabellen skall illustrera vilka provtagningslokaliseringer som är mest sannolika att påvisa bakterien hos en misstänkt bärare av MRSP och kan fungera som vägledande vid val av provtagningslokalisering. Total togs 36 stycken uppföljande prover togs under provtagning 2 och 3. Av dessa var 22 stycken

positiva och 14 stycken negativa (se Tabell 2). Procentsatsen i Tabell 3 är uträknad utifrån antalet positiva prov för den lokaliseringen, över det totala antalet positiva provtagningar.

Tabell 3. Sammanställning över hur ofta varje provtagningslokalisering påvisade bakterien hos en MRSP-positiv hund.

	Provtagningslokalisering					
	Perianalt	Mungipa	Infektion	Gingiva	Svalg	Nos
Provtagning 2	12	7	3	2	4	3
Provtagning 3	3	4	1	1	4	0
Totalt	15 = 68 %	11 = 50 %	4 = 18 %	3 = 14 %	8 = 36 %	3 = 13 %

Bland de hundar som testades positiva återfanns bakterien i lika hög utsträckning perianalt (68 %) och från mungipa/infektion (68 %). Prov som togs från gingiva/svalg påvisade bakterien i något mindre utsträckning (50 %) medan prov som togs från nosen sällan påvisade bakterien hos de hundar som ingick i studien (13 %).

Klinik

Diagnos

Två huvudsakliga diagnoser/komplikationer kunde urskiljas hos hundarna som ingick i studien, operationskomplikationer (10 hundar) och pyodermier (7 hundar). Till pyodermi räknas även hot-spot, furunkler och otit. Bakterien odlades även fram från sårinfektioner (2 hundar), aspirationspneumoni (1 hund), urinvägsinfektion (1 hund), cirkumanalfistel (1 hund) samt nossekret från en subklinisk bärare (1 hund).

Kliniska symptom

Vid första provtagningen hade samtliga hundar utom en hund kliniska symptom som föranledde en provtagning. Den hund som saknade kliniska symptom bodde ihop med en hund som visat sig vara bärare av MRSP och provtogs för att fastställa bärarskapet.

Vid uppföljande provtagningar kunde inget tydligt samband ses mellan bärarskap och huruvida hunden hade kliniska symptom eller inte (se Tabell 4). Exempel på kliniska symptom är infekterad hud, variga sår och otit. Däremot uppvisade en majoritet av hundarna inga symptom, trots att de var bärare av MRSP (9 stycken). Av de hundar som testades negativt för MRSP återfanns både hundar med kliniska symptom och utan.

Tabell 4. Sambandet mellan kliniska symptom och provtagningsresultat vid uppföljande provtagning.

	Kliniska symptom	Inga kliniska symptom
Positiv MRSP (n = 16)	7	9
Negativ MRSP (n = 20)	4	16

Stationärvård

17 av hundarna hade stationärvårdsbehandlats på djursjukhus i mer än två dagar innan MRSP först påvisades. Av dessa hade sex varit inlagda i mer än 10 dagar. Ingen av hundarna hade enligt journaluppgift behandlats på isoleringsavdelning. En av hundarna blev provtagen i samband med inskrivning och testats negativ för MRSP. Vid uppföljande provtagning efter stationärvårdsvistelse testades hunden positiv på samma provtagningslokalisering (operationssår).

Kön, ras och ålder

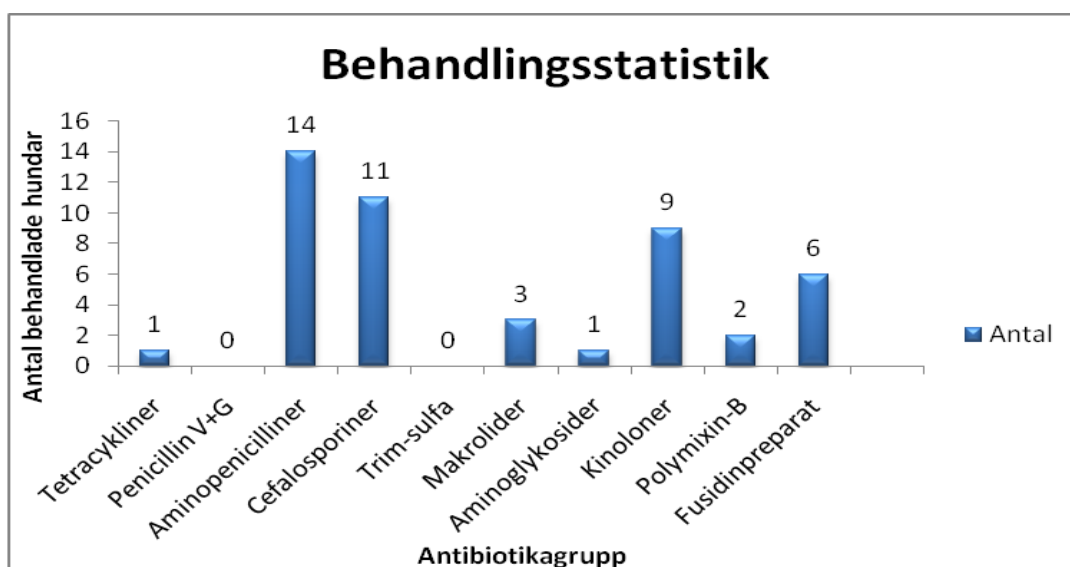
En majoritet (15 av 23) av hundarna var hondjur, resterande djur (8 av 23) var handjur. Inga trender för ålder eller ras kunde ses.

Antibiotikabehandling

Samtliga hundar som var med i projektet hade blivit behandlade med antibiotika inom tre månader före första provtagningen. Före andra provtagningen hade 43 % (10 av 23) blivit behandlade med antibiotika. Före tredje provtagningen hade 7 % (1 av 14) blivit behandlade med antibiotika. Tre av hundarna hade blivit behandlade med tetracykliner efter det att MRSP påvisats, två av dessa hade blivit behandlade i mer än 20 dagar.

Behandlingsstatistik

Aminopenicilliner, cefalosporiner (första, andra och tredje generationen) samt kinoloner (se Figur 9) var de mest frekvent använda antibiotikagrupperna som använts på hundarna inom tre månader före det att MRSP påvisades. Cefalosporiner och kinoloner tillhör de antibiotika som brukar benämnas bredspektrumantibiotika. Ingen av hundarna hade blivit behandlade med penicillin V/G som är ett smalspektrumantibiotika.

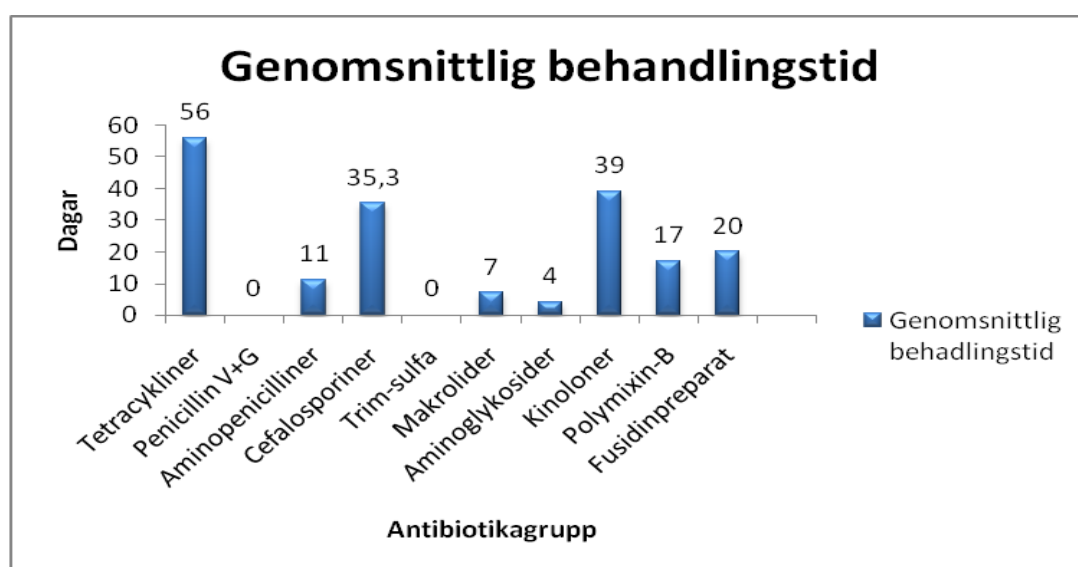


Figur 9. Fördelning över vilka antibiotikagrupper hundarna hade blivit behandlade med inom tre månader före det att MRSP påvisades första gången. Polymixin-B/mikonazol och fusidinsyra utgjorde lokalpreparat.

Vid uppföljande provtagningar var det totalt fem hundar som blivit behandlade med antibiotika efter det att MRSP påvisades och som inte längre var bärare av MRSP. Fyra av dessa hundar hade blivit behandlade med fusidinsyra – en av de antibiotikaklasser som MRSP är känslig för.

Behandlingstider

En hund i studien behandlades under sex månaders tid med en kombination av cefalexin och enrofloxacin. Om man utesluter den hunden ur statistiken är behandlingstiderna för cefalosporiner 29 dagar och enrofloxaciner 21 dagar respektive. Observera att endast en hund blev behandlad med tetracyklin, men under lång tid, därav det höga värdet i Figur 10.



Figur 10. Den genomsnittliga behandlingstiden i dagar för varje antibiotikagrupp. Notera de långa behandlingstiderna för tetracykliner, cefalosporiner samt kinoloner. Polymixin-B/mikonazol och fusidinpreparat är preparat som använts som lokalbehandling.

Den hund som testades positiv efter 12 månader (hund 1, Tabell 2) hade blivit behandlad med en kombination av kinoloner och cefalosporiner under en sammanlagd tid av sex månader. Den andra hunden som var positiv efter 10,5 månader (hund 10 i Tabell 2) hade blivit behandlad med tredje generationens cefalosporiner under en sammanlagd period av 56 dagar.

Tetracyklinbehandling

Två hundar bar MRSP som var resistent för tetracyklin med ett MIC > 32 respektive 32-64 vid andra provtagningstillfället. Detta var samma hundar som blivit behandlade med tetracykliner i mer än 20 dagar efter det att MRSP påvisats hos dem första gången.

DISKUSSION

I den här studien testades en majoritet av hundarna (86 %) positiva inom fem månader från det att MRSP först påvisades hos dem. Efter månad fem sjönk andelen positiva hundar till 23 %. Eftersom inte samma antal provtagningar gjordes för varje månad har inte procentsatsen för varje månad kunnat räknas ut

för sig utan provtagningarna har grupperats i två grupper (månad 1-5 samt månad 6-13) för att lättare illustrera resultaten.

Hundens normalflora byts successivt ut och ersätts med nya bakterier men exakt hur ofta detta sker finns det ännu inga studier gjorda på. Man har sett att *Staphylococcus pseudintermedius* beter sig olika på olika individer, en del stammar byts snabbt ut medan andra tycks stanna kvar och anpassa sig under en längre tid (Royston Goodacre, 1997a). Det är rimligt att tänka att MRSP beter sig på liknande sätt. Hos en hund som är bärare av MRSP kommer denna bakterie att utgöra en del av hundens normalflora, men precis som övriga normalflora kan även dessa bakterier komma att bytas ut med tiden om ingen selektion görs. Utifrån det material som den här studien bygger på skulle man kunna tolka det som så att en majoritet av de hundar som blir bärare av MRSP har växlat normalflora efter ungefär fem månader. Att bakterien påvisas hos så få hundar efter den här tidsperioden behöver inte betyda att den har försvunnit helt utan bara att de finns kvar i så liten mängd att de inte påvisas vid bakterieodling. En ny antibiotikabehandling skulle då teoretiskt sett kunna selektera fram MRSP på nytt.

En del av hundarna i studien ”tillfrisknade” redan efter en till två månader medan andra hade ett betydligt längre bärarskap, en hund var fortfarande positiv tolv månader efter att bakterien först påvisats. Man kan också se att mellan månad tre och sex testades inga hundar negativt trots att ett stort antal (10 av 23) provtagningar utfördes under den här tidsperioden. Man kan spekulera i om det är faktorer hos bakterien eller hos hunden som är avgörande för hur länge en hund blir bärare av bakterien. Det har tidigare visats att det är framför allt en klon av MRSP som cirkulerar i Sverige (SVARM 2007) och detta skulle kunna tala för att det kanske snarare är faktorer hos hunden som är avgörande för hur länge den blir bärare eftersom alla hundar är bärare av samma klon.

Det selektionstryck som en antibiotikabehandling utgör kan spela en avgörande roll för om bakterien får en chans att etablera sig på hunden och bli kvar eller inte. När MRSP påvisades hos hundarna i den här studien första gången hade samtliga blivit behandlade med antibiotika inom tre månader. Vid den andra provtagningen hade 10 av 23 fått antibiotika och 16 av 23 testades positiva. Vid tredje provtagningen hade 1 av 14 behandlats med antibiotika och 6 av 14 testades positiva. De två hundar som var bärare under längst tid hade blivit behandlade med antibiotika under lång tid (sex månader samt 56 dagar) och man kan då spekulera i om en mer långvarig antibiotikabehandling hinner selektera fram fler antibiotikaresistenta bakterier som tar längre tid att ersätta.

En annan faktor som skulle kunna vara avgörande är mängden bakterier som hunden härbärgerar. Ett lågt bakterieantal kan snabbare ersättas med en annan normalflora än ett högt. I den här studien erhöles emellertid inga kvantitativa resultat utan endast förekomst eller inte förekomst av MRSP.

Man kan resonera runt socialstyrelsens definition av en bärare respektive transient bärare. En transient bärare beskrivs som en ”person utan anamnes på tidigare MRSA-infektion med positivt MRSA-prov i näsa och/eller svalg vid ett enstaka tillfälle, och negativa prover vid uppföljande MRSA-provtagning”. En av hundarna i studien faller under definitionen av en transient bärare. MRSP

påvisades endast vid ett tillfälle från nossekret och ingen infektion förelåg vid provtagningstillfället (se Tabell 2 hund 15). Vid provtagning två månader senare testades hunden negativ. Övriga hundar i studien hade infektioner som föranledde provtagning och kommer således att falla under definitionen av bärare.

Ett bortfall av nio hundar till den tredje provtagningen förelåg. Om även dessa provtagningar hade kunnat genomföras är det möjligt att resultatet hade sett något annorlunda ut.

Varför är vissa diagnoser mer vanliga än andra?

En majoritet av de hundar som ingick i studien led av pyodermi eller infektion i postoperativa sår. Det har en naturlig förklaring i att *Staphylococcus pseudintermedius* är en hudbakterie och kan orsaka infektioner i huden om barriären är störd på något sätt.

Hundar med pyodermier behandlas ofta enligt tradition med cefalosporiner. Eftersom MRSP är resistent mot cefalosporiner, som ju tillhör gruppen betalaktamer, får den möjlighet växa till när andra bakterier slås ut. Hundar med pyodermier behandlas ofta med långvariga och upprepade antibiotikakurer, något som ytterligare gynnar MRSP.

Hundar som genomgår någon form av operation får en störd hudbarriär vilket ger bakterien tillträde till vävnader där den normalt inte finns. Vårdhygien i samband med operationer spelar här en avgörande roll, både före, under och efter operationen. I det undersökta materialet har samtliga hundar antibiotikabehandlats i samband med och/eller efter operationerna. Om ett operationssår blir kontaminerat med MRSP och hunden samtidigt står på antibiotikabehandling är selektionstrycket för MRSP som tidigare beskrivet högt. Policyn för antibiotikabehandling i samband med operativa ingrepp torde skilja sig mellan olika kliniker.

Kliniska symptom och bärarskap

En majoritet av de hundar som testades positiva i studien uppvisade inga kliniska symptom på sjukdom. I Zwensons examensarbete från 2006 där den första hunden med MRSP påvisades, screenades en frisk hundpopulation (Zwenson, 2007). Man kan alltså inte se på en hund om den är bärare av bakterien eller inte och det bör man ta hänsyn till när man hanterar en hund som en gång varit bärare. En hund som vid ett tillfälle testats positiv för MRSP bör därför betraktas som potentiell bärare även om den inte har några kliniska symptom kvar. Särskild hänsyn bör tas till sådana patienter, god vårdhygien skall tillämpas där exempel som kortärmade undersökningskläder, inga klockor eller smycken kan nämnas. På BSAVAs hemsida www.bsava.com kan man under ”resources” klicka sig fram till råd för hantering av patienter med MRSA. Råden var allt för omfattande för att inkluderas i den här studien men är väl värda att läsa för kliniker. En liknande skrift har getts ut för humanvården av socialstyrelsen (www.socialstyrelsen.se) ”att förebygga vårdrelaterade infektioner” (Socialstyrelsen, 2006). Strömsholm har utarbetat en egen hygienpolicy som man kan läsa om på deras hemsida (www.regiondjursjukhuset.se). Om hundarna skrivs in bör de hållas på ett sådant

sätt att smitta till övriga patienter minimeras. Exempelvis bör de inte sitta i väntrummet tillsammans med andra hundar.

Att ta fler bakterieprover för att tidigt påvisa MRSP kan leda till att man mer effektivt kan förhindra smittspridning. Har man tagit odling från en infektion och gjort en resistensbestämning har man större möjlighet att välja rätt antibiotika för den bakterie man vill behandla. När MRSP påvisas hos ett djur är den anmälningspliktig.

Djursjukhus som potentiella smittreservoarer

MRSP är en kontaktsmitta och kan effektivt spridas om patienter tillåts ha direktkontakt eller om personalen som hanterar djuren har bristande hygienrutiner. Att gå mellan två patienter utan sprita händerna eller använda handdesinfektion är en möjlig smittväg. Likaså att undersöka ineliggande djur utan att sprita händerna emellan torde kunna sprida bakterien. Det handlar om att basala hygienrutiner följs för att smittan inte skall kunna spridas mellan patienter.

Samtliga hundar som ingick i studien hade behandlats på eller varit inlagda på djursjukhus. Sju fall där hundarna för samma diagnos först testades negativa för MRSP men senare positiva förekom (hund 2, 4, 6, 12, 13, 18 och 23 i Tabell 2). Hundarna hade under tiden behandlats vid eller varit inlagde på djursjukhus. I några fall påvisades bakterien i skruvar och implantat som använts för att fixera frakturer med (se Tabell 2 hund nr 3, 5 och 20). Detta är strukturer som endast är exponerade under operation.

År 2008 utfördes en studie på ett djursjukhus i Holland som påvisade att såväl personal, miljö och personalhundar kunde vara koloniserade av MRSP och bar på samma klon som hade infekterat flera patienter (van Duijkeren et al., 2008). Detta talar för att djursjukhus är potentiella smittreservoarer av MRSP och djur som opereras på djursjukhus löper risk att bli smittade under eller efter operation samt i samband med annan vistelse. Studien tyder även på att människor kan koloniseraras av MRSP och fungera som direkt och indirekt smittkälla.

MRSP - ett nytt problem för djursjukvården?

Varför ser vi helt plötsligt ett ökat antal fall av MRSP i Sverige? Vi går från att ha påvisat bakterien för första gången år 2006 till frekvent rapportering från större delarna av landet år 2008.

En trolig förklaring är att MRSP är en smittobakterie som sprids effektivt i djursjukhusmiljöer. Djursjukhus är institutioner med högt smitt- och antibiotiketryck och alltså en miljö där MRSP torde trivas. Har man väl fått in bakterien vid ett tillfälle har den goda förutsättningar för att spridas. Idag reser vi mycket och det anordnas träffar för hundar och hundägare och våra hundar har stora möjligheter att interagera med hundar från hela landet. Vid sökning i SVAs databas från och med år 2004 över resistensbestämda *Staphylococcus intermedius* återfanns inga tidigare fall av bakterier med samma resistensmönster som den klon vi har idag (personlig kommunikation Ulrika Grönlund-Andersson, 2008-11-26). Detta talar för att det faktiskt är en ny smitta som sprider sig i Sverige. Om MRSP skall följa i MRSA:s spår så är det här en ny smitta som vi kommer att få lära oss leva med på våra djursjukhus.

Ett annat resonemang man kan föra är att MRSP har funnits i landet långt före 2006 men att vi inte har letat efter den tidigare. När MRSP väl hittades i samband med Johanna Zwensons examensarbete från 2006 fick såväl forskare som kliniker upp ögonen för den och började mer aktivt leta och provta för den. Om man inte misstänker en sjukdom så är det svårt att ta prover för den.

Antibiotikabehandling och resistensutveckling

I den här studien hade samtliga hundar behandlats med antibiotika inom en tidsperiod av tre månader före det att MRSP påvisades första gången. Liknande resultat har setts i tidigare studier. I en japansk studie där 17 hundar med MRSP ingick hade 82,4 % (14/17) av dem behandlats med antibiotika inom sex månader (Sasaki et al., 2007).

Det är värt att notera att de två hundar som testades positiva efter längst tid även hade blivit behandlad med antibiotika under lång tid (56 och 180 dagar) (se Tabell 2 hund nr 1 och 10).

Aminopenicilliner, cefalosporiner samt fluorokinoloner var de mest frekvent använda antibiotikaklasserna i den här studien. Cefalosporiner och fluorokinoloner är bredspektrumantibiotika och kan fungera som minröjare för MRSP. En hund som behandlas med bredspektrumantibiotika har ett generellt lägre bakterieantal vilket leder till att MRSP lättare kan etablera sig på hunden. Försäljningen av bredspektrumantibiotika har enligt Petterssons studie ökat kraftigt under de senaste tio åren och samtidigt har försäljningen av penicilliner med smalt spektrum (penicillin V/G) minskat. Ingen av hundarna som deltog i studien hade blivit behandlade med penicillin V/G. Det finns idag inget veterinärmedicinskt preparat tillhörande gruppen penicillin V/G vilket kan vara en förklaring till att det används så lite. Enligt kaskadprincipen skall veterinärer i första hand välja läkemedel med veterinärmedicinsk indikation men om inget sådant finns får ett humanpreparat användas istället och i humanfasc återfinns preparat tillhörande gruppen penicillin V/G (Kåvepenin®).

Den MRSP-klon som vi har i Sverige idag är som regel bara känslig för tetracykliner och fusidinsyra. Tre av hundarna i studien hade blivit behandlade med tetracykliner efter det att MRSP påvisades, två av dem hade blivit behandlade i mer än 20 dagar och en av dem i 10 dagar. Samma hundar som blivit behandlade med tetracykliner i mer än 20 dagar var de enda i studien som uppvisade resistens för tetracyklin vid uppföljande provtagning. Man kan spekulera i om det beror på att bakterien har relativt lätt för att plocka upp resistensgener (resistensgenen för tetracykliner heter *tet*-genen) eller att man selekterade fram de tetracyklinresistenta MRSP som redan fanns på hunden vid behandling med tetracyklinpreparat. Det bör i båda fallen vara ett starkt observandum. Det enda behandlingsalternativet vi har till en patient som även är tetracyklinresistent är då fusidinsyra. I studiens uppföljande provtagningar kan man urskilja fem hundar som har blivit behandlade med antibiotika och som trots det är negativa vid uppföljande provtagning (se Tabell 2 hund nr. 4, 10, 11, 13, 15), något som egentligen talar emot tidigare resonemang om selektion av MRSP vid antibiotikabehandling. Fyra av de fem hundarna hade blivit behandlade med

preparat innehållandes fusidinsyra. MRSP är känslig mot fusidinsyra och hittills har ingen MRSP med resistens mot fusidinsyra påvisats.

Antibiotikapolicy

En viktig åtgärd för att begränsa spridningen av MRSP är att minska förbrukningen av antibiotika. En insatt behandling skall grunda sig på en risk-/nyttabedömning som klinikern gör. I de fall där antibiotika bedöms nödvändig bör ett så smalt preparat som möjligt användas. På uppdrag av SVS kollegium kom det år 2002 ut en antibiotikapolicy för behandling av hund och katt. Denna återfinns bland annat på SVAs hemsida och kan användas som en vägledning för behandlande veterinärer (Kerstin Bergvall et al., 2002-01-28). En reviderad antibiotikapolicy för smådjur skrivs i år och är på väg ut.

MRSP en potentiell zoonos

Många av våra husdjur lever idag som familjemedlemmar. De sover i våra sängar och vi har nära fysisk kontakt med dem. Detta möjliggör ett utbyte av bakterier mellan oss och våra hundar.

Man har sett att hundar och människor som lever i nära kontakt kan var bärare av samma stam av *Staphylococcus intermedius* (*Staphylococcus pseudintermedius*) (Royston Goodacre, 1997). Infektion med *Staphylococcus pseudintermedius* har påvisats hos människa. Studien saknar uppgifter om huruvida den smittade mannen hade några husdjur (Van Hoovels et al., 2006). Resistenta gener kan överföras från hundar via komensala bakterier som tillfälligt koloniserar människan (Kruse, 1999). Flera studier har som tidigare nämnts påvisat MRSP på djursjukhus bland personal och hundar (Sasaki et al., 2007, van Duijkeren et al., 2008) något som tyder på att bakterien överlever hos såväl människor som djur och risk för smittspridning kan finnas över artgränserna.

Avgränsningar och felkällor

I den här studien togs de första uppföljande proverna på hundarna under ett långt tidsintervall. Tidigast blev hundarna provtagna en månad efter påvisad infektion orsakad av MRSP och som längst hade det gått nio månader. Detta ledde till att en del av de provtagningarna som utgjorde *tredje* provtagningen föll inom tidsramen för *andra* provtagningen hos andra hundar. Optimalt hade varit om alla hundar hade blivit provtagna med samma tidsintervall. Orsaken till detta var den begränsade tid som provtagningarna skulle ske under och att man då fick utnyttja det material som fanns.

Den mänskliga faktorn är alltid en felkälla i studier. Proverna har samlats in av olika veterinärer runt om i Sverige som sedan skickats via post till SVA där de har odlats. Provtagningstekniken skiljer sig från person till person och detta kan vara en möjlig felkälla i studien. Studien bygger delvis på journalanteckningar och djurägaruppgifter. Ett djurs kliniska status är en subjektiv bedömning och därmed en potentiell felkälla.

KONKLUSION

Studien har visat att hundar kan vara bärare av MRSP under en lång tid. Efter sex månader var en majoritet (77 %) av de hundar som provtogs negativa, något som talar för att bärarskapet av MRSP planar ut med tiden. Dock påvisande bakterien hos en hund så länge som 12 månader efter att den först isolerats. Både hundar med och utan kliniska symptom visade sig kunna vara bärare av bakterien, något som man bör ta hänsyn till om förnyade klinikbesök görs. Samtliga hundar i studien hade blivit behandlade med antibiotika minst 3 månader före det att MRSP påvisades första gången, detta talar för att antibiotikabehandling är en tydlig riskfaktor. Två hundar bar MRSP som var resistent mot tetracyklin, något som hittills varit mycket ovanligt för den svenska klonen av MRSP. Samma hundar var de enda som blivit behandlade med tetracykliner i mer än 20 dagar efter att MRSP påvisats.

Om man ska kunna begränsa smittan behöver användandet av antibiotika minskas och djursjukhusen behöver ha fungerande hygienrutiner. Viktigt är också att en fortsatt övervakning av det svenska läget görs. Mer forskning om hur bakterien sprids behövs.

FRAMTIDA FORSKNING

Eftersom en snabb ökning av antalet fall av MRSP har skett är det viktigt att genomföra en ny screening av den svenska hundpopulationen för att få en överblick över prevalensen idag jämfört med år 2006.

En annan mycket viktig fråga är hur stor spridning bakterien får i de smittade djurens hemmiljö. Blir de andra hundarna och katterna i familjen bärare eller transienta bärare? Sker kolonisering av bakterien på människor som hanterar hundarna?

Identifiera kritiska kontrollpunkter i djursjukhusmiljö och analysera bakterieprover därifrån samt undersöka förekomst av MRSP hos personal och personalhundar som vistas i huset.

Vilka faktorer hos hunden avgör om smittan försvinner snabbt (1-2 mån) eller om hunden blir bärare under en längre tid (12 mån).

Vilka behandlingsalternativ av MRSP finns det och bör man behandla?

LITTERATURFÖRTECKNING

- Boost MV, O. D. M., Siu KH. 2007. Characterisation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from dogs and their owners. *Clin Microbiol Infect*, 13, 731-733.
- Busscher JF, V. D. E., Sloet Van Oldruitenborgh-Osterbaan MM. 2006. The prevalence of methicillin-resistant staphylococci in healthy horses in the Netherlands. *Vet Microbiol*, 113, 131-6.
- Christopher K. Mathews, K. E. V. H., Kevin G. Ahern. 2000. *Biochemistry*, San Francisco, Addison Wesley Longman.
- Devriese, L. A., Hermans, K., Baele, M. & Haesebrouck, F. 2008. *Staphylococcus pseudintermedius* versus *Staphylococcus intermedius*. *Vet Microbiol*.
- Devriese, L. A., Vancanneyt, M., Baele, M., Vanechoutte, M., De Graef, E., Snauwaert, C., Cleenwerck, I., Dawyndt, P., Swings, J., Decostere, A. & Haesebrouck, F. 2005. *Staphylococcus pseudintermedius* sp. nov., a coagulase-positive species from animals. *Int J Syst Evol Microbiol*, 55, 1569-73.
- Frank M. Aarestrup, S. S. 2006. Antimicrobial Resistance in *Staphylococci* and *Streptococci* of Animal Origin. In Aarestrup, F. M. (Ed.) *Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin*. ASM Press.
- Guardabassi, L., Loeber, M. E. & Jacobson, A. 2004. Transmission of multiple antimicrobial-resistant *Staphylococcus intermedius* between dogs affected by deep pyoderma and their owners. *Vet Microbiol*, 98, 23-7.
- H.P. Rang, M. M. D., J.M. Ritter. 1999. *Pharmacology*. Fourth ed. Edinburgh, Churchill Livingstone.
- Hanselman, B. A., Kruth, S. & Weese, J. S. 2008. Methicillin-resistant staphylococcal colonization in dogs entering a veterinary teaching hospital. *Vet Microbiol*, 126, 277-81.
- Holm, B. R., Petersson, U., Morner, A., Bergstrom, K., Franklin, A. & Greko, C. 2002. Antimicrobial resistance in staphylococci from canine pyoderma: a prospective study of first-time and recurrent cases in Sweden. *Vet Rec*, 151, 600-5.
- Bergvall, K., Bohlin, H., Greko, C., Hoppe, A., Ingvast, C., Mannerfelt, T., Odensvik, K., Wellander, M., Linderoth, I., Bjöersdorff, A., 2002-01-28. Antibiotikapolicy för hund- och kattsjukvård.
- Kruse, H. (1999) Indirect Transfer of Antibiotic Resistance Genes to Man. *Acta Veterinaria Scandinavica*, Suppl. 92, pp 59-65.
- Malik, S., Peng, H. & Barton, M. D. 2005. Antibiotic resistance in staphylococci associated with cats and dogs. *J Appl Microbiol*, 99, 1283-93.
- OIE. 2006. Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. In health, T. C. F. F. S. P. (Ed.). <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/mrsa.pdf>
- P.J. Quinn, B. K. M., M.E. Carter, W.J. Donnelly, F.C. Leonard. 2002. *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*, Oxford, Blackwell publishin.
- Pettersson, L. 2007. Antibiotikaförsäljning för hund och katt i Sverige under 2006. *Svensk veterinärtidning*, 11-15.
- Royston Goodacre, R. H., Howell, S., Greenham, L. W., Noble, W. 1997a. An epidemiological study of *Staphylococcus intermedius* strains isolated from dogs, their owners and veterinary surgeons *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 44, 49-64.

- Sasaki, T., Kikuchi, K., Tanaka, Y., Takahashi, N., Kamata, S. & Hiramatsu, K. 2007. Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in a veterinary teaching hospital. *J Clin Microbiol*, 45, 1118-25.
- Socialstyrelsen. 2006. Att förebygga vårdrelaterade infektioner (www.socialstyrelsen.se).
- SVARM (2006) Swedish Veterinary Antibimicrobial Resistance Monitoring (www.sva.se).
- SVARM (2007) Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring (www.sva.se).
- Van Duijkeren, E., Houwers, D. J., Schoormans, A., Broekhuizen-Stins, M. J., Ikawaty, R., Fluit, A. C. & Wagenaar, J. A. 2008. Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus intermedius* between humans and animals. *Vet Microbiol*, 128, 213-5.
- Van Hoovels, L., Vankeerberghen, A., Boel, A., Van Vaerenbergh, K. & De Beenhouwer, H. 2006. First case of *Staphylococcus pseudintermedius* infection in a human. *J Clin Microbiol*, 44, 4609-12.
- Wettstein, K., Descloux, S., Rossano, A. & Perreten, V. 2008. Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in Switzerland: three cases of urinary tract infections in cats. *Schweiz Arch Tierheilkd*, 150, 339-43.
- Zwenson, J. 2007. Antibiotikaresistens hos bakterier isolerade från friska hundar i Sverige. ISSN:1652-8697, examensarbete nr. 2007:20

BILAGOR

Bilaga 1

Remiss för hund som deltar i studien *bärarskap av meticillinresistent Staphylococcus intermedius/pseudintermedius (MRSI/MRSP)*

Djurägarens namn och adress:

Provtagningsdatum:

Djurets namn:

Djurets ålder:

Djursjukhus vid vilket MRSI diagnosticerades:

Tid sedan MRSP först påvisades:

DEL 1

Journalanteckningar

1. Diagnos (ex. fraktur, pyodermi, otit, pyometra)

2. Åtgärd (ex. operation)

3. Stationärvård

a) Längd på vistelse före provtagning (från inskrivning)

b) Längd på vistelse efter provtagning (till utskrivning)

c) Förnyade stationärvårdsvistelser

4. Antibiotikabehandling i samband med aktuell diagnos

a) **Före MRSI påvisades**

(Sådant som hunden stog på innan, exempelvis antibiotika mot UVI eller hudproblem; dock inom 3 mån från diagnos MRSI.)

Substans: _____

Behandlingstid: _____

b) Efter MRSI påvisades

(Antibiotika att gå hem på, fortsatt behandling av tidigare sjukdom ex. hud).

Substans: _____

Behandlingstid: _____

5. Samtliga provtagningar från 3 månader innan MRSI diagnosticerades till datum för studiens provtagning.

a) Bakteriologisk provtagning inom tre mån innan MRSP påvisades (provtagningsställe, odlingsresultat, resistensundersökning).

Ex: 1/1 nossvabb, staf. Aureus, resistens: se bilaga.

Datum: _____

b) Bakteriologisk provtagning efter MRSP påvisades

(provtagningsställe, odlingsresultat, resistensundersökning)

Datum: _____

6. När uppträdde infektionssymptom och var?

a) Hunden hade redan pågående infektion av annat slag (UVI, hud).

b) Hunden hade redan infektionssymptom som kan relateras till det

problem som de senare sökte veterinär för (ex. bitskada som soppa).

c) Hunden fick infektion efter åtgärd på djursjukhus (ex.

operationssåret började soppa efter 2 v./har gjort det hela tiden)

7. Hur lång tid tog det för infektionssymptomen att läka av?

a) Infektionen avläkte efter: _____ mån

- b) Infektionen fortgår
- c) Infektionen kommer och går

DEL 2

Djurägarfrågor

1. Har din hund haft fortsatta/förnyade infektionsbesvär (feber, svullet, ömt, soppande sår, diagnos via baktodling etc) efter det senaste besöket hos _____ som diagnosticerade MRSI?

- Ja
 Nej

Om Ja:

- a) På vilket sätt har detta märkts?

- b) Har hunden behandlats av annan veterinär och i så fall med vad?

- c) Har hunden behandlats på eget initiativ hemma och i så fall med vad?

- d) Har ytterligare provtagning skett? (Utöver den som påvisade MRSI exempelvis på annan klinik).

2. Har din hund blivit behandlad med antibiotikatabletter av en annan veterinär/på annan klinik inom 3 månader före besöket på _____?

- Ja
 Nej

Om ja:

- a) Av vilken anledning:

- Urinvägsproblem
 Öron- och/eller hudproblem
 I samband med operation
 Annat _____

3. Har din hund blivit behandlad med kortisoninjektioner/-tabletter i mer än 3 dagar under de senaste åren?

Ja

Nej

Kommentar: _____

4. Har din hund blivit behandlad med cellgifter vid något tillfälle?

Ja

Nej

Kommentar: _____

Djurägarens medgivande:

Jag har tagit del av information om undersökningen och ger härmed mitt godkännande till insamlingen av prov:

.....
Ort och datum Underskrift

DEL 3

Andra, uppföljande provtagning som görs i samband med studien *bärarskap av methicillinresistent Staphylococcus pseudintermedius (MRSP)*.

Djurägare:

Djurets namn:

Journalnummer:

Djursjukhus/klinik:

Datum föregående provtagning:

Resultat föregående provtagning (neg/pos):

Veterinär

Provtagande veterinär:

Provtagningsdatum:

Provtagningsställen:

Perianalt

Nos

- Svalg
- Gingiva
- Sår

Djurägarfrågor

3. Har din hund haft fortsatta/förnyade infektionsbesvär (feber, svullet, ömt, soppande sår, diagnos via baktodling etc) efter det senaste provtagningstillfället som gjordes i samband med studien?

- Ja
- Nej

Om Ja:

b) På vilket sätt har detta märkts?

c) Har ytterligare provtagning skett? (Utöver den som påvisade MRSA samt den som gjordes som uppföljande provtagning i samband med studien).

Kommentar:

2. Har din hund varit inlagd på djursjukhus/opererats/behandlats på djurklinik efter föregående provtagning som gjordes i samband med studien?

Kommentar:

3. Har din hund blivit behandlad/behandlat själv med antibiotikatabletter sedan föregående provtagningstillfälle?

- Ja
- Nej

Om ja:

a) Av vilken anledning:

- Urinvägsproblem
- Öron- och/eller hudproblem
- I samband med operation
- Annat _____

—

b) Med vad behandlades hunden?

3. Har din hund blivit behandlad med kortisoninjektioner/-tabletter i mer än 3 dagar under de senaste åren?

Ja

Nej

Kommentar: _____

4. Har din hund blivit behandlad med cellgifter vid något tillfälle?

Ja

Nej

Kommentar: _____

Djurägarens medgivande:

Jag har tagit del av information om undersökningen och ger härmed mitt godkännande till insamlingen av prov:

.....
Ort och datum

Underskrift

Bilaga 2

Metodbeskrivning

DAG 1 och 2

Provtagningspinnarna stryks på plattor innehållande 4 % NaCl, 5 % fårblod, 6 µg oxacillin/ml i Müller Hintonagar (MH-agar). Som komplement till det tillsatta oxacillinet sattes en cefoxitinlapp mitt i primärstryket. Detta för att ytterligare särskilja resistent bakterier från icke-resistent. Därefter inkuberas plattorna i 48 h i 37°C. Provtagningspinnarna sätts i en buljong bestående av TSB med 4 % NaCl, 1 % mannitol, 16 µg/ml fenolrött, 1 µg/ml cefoxitin, 50 µg/ml aztreonam (per 100 ml buljong blir detta 2,67 ml aztreonam och 0,1 ml cefoxitin). Buljongen inkuberas i 48 h i 37°C.

DAG 3

Misstänkta stafylokockliknande kolonier i zonen från cefoxitinlappen plockas och stryk ut på nötblodagar för renodling och inkuberas i 24 h i 37°C. 10 µl av TSB-buljongen stryks ut på nötagarplattor samt på MAST (ett selektivt medium för isolering av patogena stafylokocker) innehållande LiCl (hämmar enterokocker). Dessa inkuberas i 37°C i 48h.

DAG 4

Misstänkta kolonier som strukits från MH-agarn typades (koagulas +, maltos -, trehalos + och DNAs +) för att verifiera *S. pseudintermedius*.

DAG 5

Kolonier med αβ-hemolys plockas från nötblodagar som strukits från TSB, och misstänkta Si (gula) från MAST-plattan dras på nötblodagar för kontroll av eventuell αβ-hemolys. Som komplement kan en BileEskulinplatta sättas på misstänkta kolonier.

DAG 6

Misstänkta kolonier typades med sockerrörsjäsning (koagulas, maltos, trehalos och DNAs). *Staphylococcus pseudintermedius* är koagulas +, maltos +, trehalos - samt DNAs +. *Staphylococcus pseudintermedius* sätts dels på en Gr+ vetMIC platta i 16-20 h i 37 C och dels på en MRS-detection i 24 h 35°C. Stammar med resistens mot oxacillin och cefaxetin latexagglutinerar¹ för indirekt påvisande av *mecA*-genen. När *mecA*-genen påvisats benämns den som en MRSP. Kolonier med rätt hemolys (α+β) går vidare till stafylokocktypning (koagulas +, maltos +, trehalos -, DNAs +). *Staphylococcus pseudintermedius* sätts på dels en Gr+ vetMIC samt en MRS-detection enligt ovan. *Staphylococcus pseudintermedius* verifieras som MRSP (meticillinresistent) genom MecA + latexagglutination och nuc - PCR.

¹ Latexagglutination är en metod för att indirekt påvisa *mecA*-genen. *MecA* kodar för ett förändrat ytprotein hos bakterien, PBP-2a. Genom att tillsätta antikroppar mot PBP-2a till ett prov med misstänkta MRSP kan man få fram agglutination som påvisar det förändrade proteinet, och därmed indirekt *mecA*-genen.