



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

**Fakulteten för veterinärmedicin
och husdjursvetenskap**
Institutionen för biomedicin och veterinär
folkhälsovetenskap

Förekomst av meticillinresistenta *Staphylococcus* spp. i djursjukhusmiljö med fokus på smådjursklinik

Louice Ekesbo

*Uppsala
2018*

Examensarbete 30 hp inom veterinärprogrammet

*ISSN 1652-8697
Examensarbete 2018:55*

Förekomst av meticillinresistenta *Staphylococcus* spp. i djursjukhusmiljö med fokus på smådjursklinik

Occurrence of methicillin resistant *Staphylococcus* spp. in the environment of animal hospital focusing on small animal clinic

Louice Ekesbo

Handledare: Ingrid Hansson, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Biträdande handledare: Helene Hamlin, institutionen för kliniska vetenskaper

Examinator: Bengt Guss, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Examensarbete i veterinärmedicin

Omfattning: 30 hp

Nivå och fördjupning: Avancerad nivå, A2E

Kurskod: EX0830

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2018

Delnummer i serie: Examensarbete 2018:55

ISSN: 1652-8697

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: stafylokocker, miljö, smådjur, meticillinresistens

Key words: staphylococcus, environment, small animal, methicillin resistant

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

SAMMANFATTNING

Stafylokocker är vanliga och viktiga bakterier inom veterinärmedicin. Två av de viktigaste arterna är *Staphylococcus aureus* och *Staphylococcus pseudintermedius*. Bakterierna kan orsaka hudinfektioner, sårinfektioner och urinvägsinfektioner men de ingår också i normalfloran på hud och slemhinnor hos såväl djur som människor. Antibiotikaresistens bland bakterier är ett ökande problem globalt, även bland stafylokocker. I flera studier har meticillinresistenta stafylokocker påvisats i miljön, på såväl smådjurskliniker och hästkliniker som inom humanmedicinen. Både meticillinresistenta *S. aureus* (MRSA) och *S. pseudintermedius* (MRSP) har påvisats i miljön på smådjurskliniker. Förekomst av meticillinresistenta stafylokocker i miljön har kopplats till förekomst av infektioner med meticillinresistenta stafylokocker hos patienter, vilket gör det till en viktig parameter att övervaka och kontrollera i vårdmiljön.

Denna studie är en uppföljning på en studie av Gustafsson (2010) där förekomsten av meticillinresistenta stafylokocker i miljön på smådjurskliniken på universitetsdjursjukhuset i Uppsala (UDS) undersöktes. Sedan dess har UDS bytt lokaler och kunskapen om meticillinresistenta stafylokocker har ökat. Syftet med studien är att undersöka förekomsten av meticillinresistenta stafylokocker i miljön på den nya smådjurskliniken på UDS och om det finns något samband mellan förekomst av meticillinresistenta stafylokocker och lokalisering.

I studien togs 68 miljöprover från ytor som klassades som humana tagetytor eller djurkontaktytor. De odlades på blodagarplatta, MAST agarplatta och chromogen agarplatta. MALDI-TOF användes för att artbestämma påvisade bakterier. Ett isolat från varje provtagningsplats där *S. aureus* eller *S. pseudintermedius* påvisats undersöktes med hjälp av PCR för att påvisa följande gener: *nuc*, *mecA*, *mecC* och gener som kodar för PVL.

S. aureus påvisades på 41 av 68 provtagningsplatser och *S. pseudintermedius* på tre av 68 provtagningsplatser. Samtliga *S. aureus* var positiva för *nuc*. *Nuc* kunde dock inte påvisas i något av *S. pseudintermedius*-isolaten vilket var väntat då *nuc*-primern är specifik för *S. aureus*. Varken *mecA*, *mecC* eller PVL kunde påvisas i något av isolaten, därför ansågs inte MRSA eller MRSP finnas bland proverna.

Sammanfattningsvis kan sägas att inga meticillinresistenta stafylokocker kunde påvisas i miljön på smådjurskliniken, UDS. Att meticillinresistenta stafylokocker finns i miljön går dock inte att utesluta då ytterligare provtagning krävs för att kunna dra sådana slutsatser. Inget signifikant samband påvisades mellan förekomst och lokalisering av stafylokocker.

SUMMARY

Staphylococci are common and important bacteria within veterinary medicine. Two of the most important species are *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius*. The bacteria can cause skin infections, wound infections and urinary tract infections, but can also be a part of the normal flora of the skin and mucosa of healthy animals and humans. Resistance among bacteria are an increasing problem globally, also among staphylococci. Several studies have demonstrated the existence of methicillin resistant staphylococci in the environment at small animal clinics, equine clinics and within human health care facilities. Both MRSA and MRSP has been proven to exist in the environment in small animal clinics. The existence of methicillin resistant staphylococci in the environment has been connected to presence of infections with methicillin resistant staphylococci amongst the patients, making it an important factor to surveillance and control in the environment of health care facilities.

This study is a follow up after a study by Gustafsson (2010) where the presence of methicillin resistant staphylococci in the environment of the small animal clinic at the veterinary teaching hospital in Uppsala, Sweden (UDS) were examined. Since then the clinic has moved to new facilities and the knowledge about methicillin resistant staphylococci has increased. The aim of this study is to examine the presence of methicillin staphylococci at the small animal clinic at UDS and examine if there is a connection between the presence of methicillin resistant staphylococci and the localisation.

In the study 68 environmental samples were taken and classified as either human contact surfaces or animal contact surfaces. The bacteria were cultured on blood agar plate, MAST agar plate and chromogenic agar plate. The identification of bacteria was made with MALDI-TOF. One isolate from each sampling site were analysed using PCR regarding presence of the *nuc*, *mecA*, *mecC*, or PVL genes.

S. aureus were present in 41 of 68 samples and *S. pseudintermedius* in three of 68 samples. All the *S. aureus* isolates carried the *nuc* gene, but none of the *S. pseudintermedius* carried the *nuc* gene, which was expected. Neither *mecA*, *mecC* nor PVL could be detected in any of the samples, thus excluding the presence of any methicillin resistant staphylococci.

In conclusion no methicillin resistant staphylococci could be detected in the environment of the small animal clinic at UDS. However, to exclude the presence of methicillin resistant staphylococci in the environment, further sampling will be needed. No significant correlation was established between the location and presence of staphylococci.

INNEHÅLL

Inledning.....	1
Litteraturoversikt.....	2
Stafylokokker	2
Meticillinresistenta stafylokokker	2
Stafylokokker i miljön inom djursjukvården.....	4
Stafylokokker i miljön inom humanvården	5
Hindra spridning av stafylokokker	5
Material och metoder.....	7
Provtagningsytor	7
Provtagning och odling av bakterier	7
Analys, typning och konfirmering.....	8
Resultat.....	9
Diskussion	12
Konklusion	15
Referenser.....	16

FÖRKORTNINGAR

CLED-agar = Cystine Lactose Electrolyte Deficient agar

MALDI-TOF MS = Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time Of Flight Mass Spectrometry

MAST-agar = Mannitol salt agar med LiCl

MRSA = Meticillinresistent *Staphylococcus aureus*

MRSI = Meticillinresistent *Staphylococcus intermedius*

MRSP = Meticillinresistent *Staphylococcus pseudintermedius*

PCR = Polymerase chain reaction

PVL = Panton-Valentine Leukocidin toxin

UDS = Universitetsdjursjukhuset i Uppsala

INLEDNING

Resistenta bakterier är ett ökande problem i världen idag. Det rapporteras och diskuteras ofta i medierna om antibiotikaanvändning och forskning som sker på området (Federley, 2017; Klarin, 2017). En bakterie som är vanligt förekommande hos såväl djur som människor är MRSA, meticillinresistent *Staphylococcus aureus*. I Sverige klassas MRSA som en allmänfarlig sjukdom enligt smittskyddslagen, en human infektion eller ett bärarskap av MRSA ska enligt smittskyddslagen anmälas till smittskyddsläkaren i landstinget och Folkhälso-myndigheten (SFS 2004:168). Fyndet ska även föranleda en smittspårning. Även meticillin-resistent *S. aureus* hos djur är anmälningspliktigt och anmälan görs oftast av det diagnosticerande laboratoriet till Jordbruksverket och Länsstyrelsen (SJVFS 2013:23; SJVFS 2013:14). Smittskyddsläkaren i landstinget ska också informeras. Sedan 1 september 2013 ska speciella åtgärder vidtas om man misstänker eller påvisar MRSA eller MRSP hos hund eller katt. Dessa åtgärder är reglerade i Jordbruksverkets föreskrifter (SJVFS 2013:14). I Sverige har det funnits fall av MRSA hos både våra vanliga sällskapsdjur och produktionsdjur. Det första fallet av MRSA på djur i Sverige diagnosticerades år 2006 hos en hund med sårinfektion (Swedres-Svarm, 2016) och det första utbrottet av MRSA bland hästar som kunde kopplas till djursjukhus var 2008 (Bergström et al, 2012b).

År 2010 skrev Camilla Gustafsson ett examensarbete där hon undersökte förekomsten av meticillinresistent *Staphylococcus* spp. i djursjukhusmiljö (Gustafsson, 2010). Provtagningen skedde på universitetsdjursjukhuset i Uppsala (UDS). Under sommaren 2014 flyttade UDS till nya lokaler belägna ungefär en halv kilometer söder om de tidigare lokalerna och sedan dess har inga undersökningar av meticillinresistent stafylokocker i miljön på smådjurskliniken gjorts. Det här arbetet är en uppföljning på arbetet från 2010, för att kunna se hur förekomsten av meticillinresistent stafylokocker har förändrats efter flytten till de nya lokalerna.

Syftet med det här arbetet är att undersöka förekomsten av MRSA och MRSP i miljön på ett stort smådjursdjursjukhus (UDS) och att jämföra resultatet med det globala läget och resultatet från Gustafssons examensarbete 2010. Arbetets frågeställningar är:

- Förekommer MRSA och/eller MRSP i miljön på smådjurskliniken UDS?
- Går det att koppla förekomsten av MRSA och MRSP till humana kontaktytor eller djurkontaktytor?

LITTERATURÖVERSIKT

Meticillinresistenta stafylokocker innefattar meticillinresistenta *Staphylococcus aureus* (MRSA) och meticillinresistenta *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP). Infektioner med MRSA och MRSP är anmälningspliktigt för veterinärer i Sverige och det finns särskilda bestämmelser för att hindra smittspridning hos infekterade och misstänkt infekterade djur (SJVFS 2013:14; SJVFS 2013:23).

Stafylokocker

Stafylokocker är vanligt förekommande bakterier som kan finnas hos friska individer men också orsaka infektioner. *Staphylococcus aureus* och *S. pseudintermedius* är två relativt vanligt förekommande bakterier inom veterinärmedicinen. *Staphylococcus intermedius* beskrevs först år 1976, tidigare hade dessa bakterier räknats som *S. aureus* (Hájek, 1976). År 2005 skedde en ny artuppdelning av stafylokockerna då en ny grupp bakterier som var mest lika *S. intermedius* identifierades. Denna grupp fick artnamnet *Staphylococcus pseudintermedius* (Devriese *et al.*, 2005). I en studie av Sasaki *et al.* (2007) undersöktes *S. intermedius*-isolat och det kunde konstateras att samtliga isolat från hund, katt och människa tillhörde den nya arten *S. pseudintermedius*. I det här arbetet används både *S. pseudintermedius* och *S. intermedius*, beroende på vad författarna presenterat för resultat. MRSP och MRSI används också utifrån vad författarna presenterat. De två namnen betraktas dock stå för samma bakterie, så länge isolaten kommer från hund, katt eller människa.

S. aureus anses ha människan som huvudvärd och är väl anpassad till att kolonisera hud och slemhinnor (Weese & Fulford 2011). Trots att människan är den främsta värden för *S. aureus* förekommer bakterien på hud och slemhinnor även hos friska hundar och katter. *S. intermedius* har också identifierats i prover från slemhinna och hud från friska hundar och katter (Talan *et al.*, 1989; Abraham *et al.*, 2007; Griffeth *et al.*, 2008). Både *S. aureus* och *S. intermedius* har identifierats i prover från hund och katt med hudsjukdom (Abraham *et al.*, 2007, Griffeth *et al.*, 2008). I en studie från USA sågs att *S. intermedius* var vanligare på hud och slemhinnor hos hundar jämfört med *S. aureus* (34 friska och 52 med hudsjukdom jämfört med sex friska och sex med hudsjukdom) (Griffeth *et al.*, 2008). *S. pseudintermedius* orsakar oftast sårinfektioner, hudinfektioner och urinvägsinfektioner hos hund (Bardiau *et al.*, 2013, Windahl, 2015). En studie har visat att *S. pseudintermedius*, inte *S. intermedius*, tycks vara den vanligaste hudpatogenen hos hundar (Bannoehr *et al.*, 2007).

Det har även beskrivits fall där människor fått infektioner orsakade av *S. pseudintermedius* (Lozano *et al.*, 2017). Infektioner som har beskrivits är bland annat sårinfektion, cellulit och fotulceration (Lozano *et al.*, 2017). Infektioner har setts hos människor med hundkontakt, men också hos människor som ej har hundkontakt. Hos hundägare som drabbas har hundarna och djurägaren burit på bakteriestammar med motsvarande virulensgener och resistensmönster. Därför misstänks att bakterien kan överföras från djur till människor (Lozano *et al.*, 2017).

Meticillinresistenta stafylokocker

Meticillinresistens hos stafylokocker upptäcktes redan i början på 1960-talet, bara några år efter att läkemedlet Celbenin (meticillin) blev tillgängligt på marknaden. Resistensen kunde påvisas både i experimentell miljö (Barber, 1961) och i isolat från människor (Jevons, 1961).

MRSA och MRSA kan, precis som de icke-resistenta stafylokockerna, förekomma på hud och slemhinnor hos friska hundar och katter (Talan *et al.*, 1989, Abraham *et al.*, 2007, Griffeth *et al.*, 2008). Såväl katter som hundar kan drabbas av infektioner med meticillinresistenta stafylokocker. Det är ungefär lika vanligt med MRSA-infektion hos hund som hos katt, men MRSA-infektioner ses i större utsträckning hos hundar jämfört med katter (Morris *et al.*, 2006). Det har setts att 13,5 % av dermatiter hos hund och katt i Japan orsakade av *S. pseudintermedius* är orsakade av meticillinresistenta bakterier (Bardiau *et al.*, 2013).

I en studie av ett MRSP-utbrott på ett universitetsdjursjukhus i Finland orsakade MRSP framförallt postoperativa sårinfektioner, men även andra sårinfektioner, otit och urinvägsinfektion (Grönthal *et al.*, 2014). Utbrottet pågick i 14 månader och under den tiden blev 27 patienter infekterade och 36 patienter koloniserade och under uppföljningsperioden upptäcktes ytterligare sju fall. Detta utbrott bedömdes vara nosokomialt baserat på att fallen rumsligt och tidsmässigt kunde kopplas till varandra, att patienterna inte hade några tecken på MRSP när de anlände till djursjukhuset och att bakteriernas molekylära karakteristika tydde på en klonal spridning. Riskfaktorerna för MRSP-infektion vid utbrottet var: hudlesioner oavsett etiologi, antimikrobiell behandling oavsett preparat och antal dagar patienten vårdats på intensivvårdsavdelningen eller kirurgivårdsavdelningen. Ganska tidigt i utbrottet stängdes djursjukhuset ned och sanerades under två dagar. När miljöprover togs, ca ett halvt till ett år efter saneringen, på djursjukhuset kunde MRSP av samma typ som orsakade utbrottet enbart påvisas på den avdelning där de infekterade djuren vårdades (Grönthal *et al.*, 2014).

Risken att infektion med *S. pseudintermedius* är orsakad av meticillinresistenta bakterier är signifikant högre om patienten besökt en veterinärklinik vid upprepade tillfällen eller varit inlagd på ett djursjukhus (Lehner *et al.*, 2014). Det har setts att hundar som inte bär på MRSP när de anländer till djursjukhuset är bärare efter operation och stationärvård (Bergström *et al.*, 2012a).

Det är ganska ovanligt att MRSA isoleras från djur i Sverige. Det första fallet av MRSA hos djur i Sverige var en hund med sårinfektion hösten 2006 (SVA, 2017). Mellan 2006–2016 isolerades 114 konfirmerade fall av MRSA hos våra domesticerade djur. 2016 isolerades fyra fall av MRSA hos hund och katt, proven var från tre sårinfektioner och en övre luftvägsinfektion. Under 2016 påvisades också MRSA hos en igelkott och det var ett utbrott av MRSA hos fyra får och 19 getter på ett zoo. MRSP förekommer i större utsträckning än MRSA hos svenska husdjur, framförallt hos hund. Under 2016 rapporterades 55 fall av MRSP där majoriteten var från hundar, endast två fall var från andra djurslag (en katt och en säl). Majoriteten av de MRSP-positiva proverna var från hud (14/45 prover) eller sår (15/45 prover). (Swedres-Svarm 2016) I Sverige var 0,8 % av testade *S. aureus* meticillinresistenta år 2015, vilket är under det europeiska genomsnittet på 16,8 % (ECDC, 2017).

Inga kända utbrott av MRSA eller MRSP på smådjur har skett i UDS:s nya lokaler sedan flytten, det har däremot varit två utbrott av MRSA på hästkliniken (2014 och sommaren 2017) som är belägen i samma byggnad. Hästkliniken och smådjursdjursjukhuset delar på samma laboratorium, i övrigt är det skilda lokaler. Att MRSA och MRSP isoleras hos smådjur är ovanligt på UDS (Henrik Ericsson, UDS, personlig kontakt, 2017-11-02).

Två gener som har identifierats och kopplats till meticillinresistens är *mecA* och *mecC* (Ballhausen *et al.*, 2014). Samtliga diagnosticerade fall i Sverige av MRSA har burit på en av de två generna (Swedres-Svarm, 2016). *MecA* har också identifierats hos MRSP (Bannoehr *et*

al., 2007, Ishihara *et al.*, 2016, Kang, Chung & Hwang, 2017). Förekomst av *mecA* används för att identifiera MRSP (Kang, Chung & Hwang, 2017).

Stafyloocker i miljö inom djursjukvården

I en studie från 2010 utförd på UDS påvisades MRSA på tre av 56 provtagningsställen och MRSP på nio provtagningsställen. Totalt togs 56 prover på 46 olika platser. Samtliga resistenta isolat bar på *mecA*-genen. I studien påvisades *S. aureus* på 22 av 56 provtagna ytor och *S. pseudintermedius* på 12 av 56 provtagna ytor. De prover som var positiva för MRSA var från golvet i akutmottagningen och humana tagytor på jour- och ortopedoperation. Proverna med påvisad MRSP var tagna på golv i förhall och väntrum, mattor i väntrum, stols- och bordsben i väntrum, vågar, tangentbord och humana tagytor på infektionsavdelningen, dermatologirum och stallkorridor (Gustafsson, 2010).

I en annan studie utförd på UDS kunde *S. pseudintermedius* påvisas från 13 av 57 provtagningsplatser (22,8 %) och *S. aureus* påvisades på 22 av 57 provtagningsplatser (38,6 %) (Bergström *et al.*, 2012a). Tio (17,5 %) av *S. pseudintermedius*-isolaten var MRSP och tre (5,3 %) av *S. aureus*-isolaten var MRSA. Både MRSA och MRSP påvisades på både humana tagytor och djurkontaktytor (Bergström *et al.*, 2012a).

Vid provtagning i miljö på ett smådjursdjursjukhus i USA påvisades MRSA på 18 av 110 provtagningsplatser (16,4 %) (Hoet *et al.*, 2011). Det fanns MRSA på både djurkontaktytor och humana tagytor. MRSA kunde identifieras på bårar, i burar, på munkorgar, i vattenskålar, undersökningsbord och -golv och generell utrustning, samt på dörrar, tangentbord/datormus och toalettkranar (Hoet *et al.*, 2011).

I miljö på ett universitetsdjursjukhus för vilda och tama smådjur i Costa Rica förekom MRSA på 27 av 102 (26,5 %) av provtagna ytor och *S. aureus* påvisades på 41 av 102 (40,2 %) av provtagningsställena (Rojas *et al.*, 2017). Ingen signifikant skillnad kunde påvisas beroende på om det var en human kontaktyta, en djurkontaktyta eller om både människor och djur hade kontakt med den. Prover togs i två omgångar, på samma ställen, och fyra provtagningsställen var positiva för MRSA vid båda provtagningsstillfällena (en kran, dörrar, undersökningsbord och stora burar) (Rojas *et al.*, 2017).

I en studie från Thailand av Fungwithaya *et al.* (2017) undersöktes förekomsten av stafyloocker i miljö i en operationsavdelning på ett universitetsdjursjukhus för smådjur. Av 29 provtagna humana tagytor isolerades det i 11 prover koagulasnegativa stafyloocker och i tre prover koagulaspositiva stafyloocker. MRSP fanns på ett återandningssystem i den provtagna operationssalen och på en rakapparat som användes till hund.

Weese *et al.*, (2004) undersökte förekomsten av MRSA på både smådjurs- och hästkliniken på ett universitetsdjursjukhus i Kanada och kunde påvisa meticillinresistenta *S. aureus* på 9,6 % av provtagningsplatserna. I denna studie var prevalensen högre på hästkliniken jämfört med smådjurskliniken, där MRSA inte påvisades i något prov. Förekomsten av MRSA på hästkliniker har varit 8,6-11,5 % av provtagna platser i studier från USA (van Balen *et al.*, 2014; Bortolami *et al.*, 2017). I en studie av van Balen *et al.*, (2014) provtogs miljön varje månad i ett år och prevalensen MRSA varierade från 0,0 % till 18,5 % av de provtagna platserna. Studien kunde också påvisa att kontaminationen i miljö var signifikant större under hösten (okt-dec) och minst under sommaren (jul-sep) (van Balen *et al.*, 2014). Förekomsten av MRSA i miljö

är högre i stallar där MRSA-positiva hästar vistas (Weese *et al.*, 2004). Provtagningsytor som i störst utsträckning varit positiva för MRSA i provtagning på hästkliniker är tangentbord, mat- och vattentråg, bremsar, operationsbord och -dynor och stallgolv (Weese *et al.*, 2004; van Balen *et al.*, 2014; Bortolami *et al.*, 2017). MRSA har också påvisats i 7,4 % av prover från personalens händer (Bortolami *et al.*, 2017). I Sverige har nosokomial smitta av MRSA på hästdjursjukhus rapporterats (Bergström *et al.*, 2012b). De drabbade djuren hade gemensamt att samma instrument hade använts på båda patienterna vid operation (rengöring mellan) eller att de vistats i samma operationssal under samma dag. Därför misstänktes denna indirekta smittväg vara orsaken. En förekomst av MRSA i miljön kan alltså leda till infektion (Bergström *et al.*, 2012b).

Stafylokocker i miljön inom humanvården

S. aureus och MRSA förekommer också i miljön inom humanvården. I en studie från en tandläkarklinik i Egypten förekom *S. aureus* på 4,2 % (43 st.) av provtagna ytor. Av dessa 43 *S. aureus*-stammar var 13 stycken MRSA. MRSA påvisades i fem av sex vårdrum och de ytor där MRSA i störst utsträckning påvisades var dörrhandtag och tandläkarnas stolar. Samtliga MRSA bar på *mecA* medan *mecC* inte identifierades i något isolat och två MRSA-isolat (15,38 %) från miljön var positiva för PVL (Khairalla *et al.*, 2017). Vid en studie på ett japanskt sjukhus konstaterades att förekomsten av MRSA i närmiljön hos MRSA-infekterade patienter var hög, 25 % av ”over bed table” och 31,6 % av ”bed side rail” var kontaminerade med MRSA (Kurashige, Oie & Furukawa, 2016).

I samband med ett utbrott av MRSA på en operationsvårdsavdelning i England togs miljöprover. Totalt togs 673 prover, varav MRSA kunde påvisas i 10,7 % av dem, under totalt fem månader utspridda på en tidsperiod av ett år och sju månader. Kraftigare miljöåtgärder vidtogs för att hindra smittspridning. En grupp som leddes av en kirurg och innehöll personal från sjukhusets infektionskontrollgrupp tillsattes, vårdavdelningen stängdes ned i omgångar och rengjordes grundligt, tiden som lades på städning nästan fördubblades, från 66,5 h / vecka till 123,5 h / vecka, och hade extra tyngd på att hålla ned mängden damm genom dammsugning av mattor och golv med dammsugare med särskilda luftfilter. En ansvarsfördelning för städningen gjordes och ett schema för rengöring av medicinsk utrustning, såsom droppställningar och syrgasutrusning, lades upp. Efter de kraftiga miljöåtgärderna var vidtagna undersöktes miljön igen. Då kunde MRSA identifieras på tre av 631 provtagningsytor, men det var inte samma MRSA-stam som hade varit inblandad i utbrottet tidigare. MRSA påvisades i störst utsträckning på elementen (36,4 %) och på medicinsk utrustning (13,2 %). Rampling *et al.* (2001) drog slutsatsen att utbrottet inte gick att kontrollera förrän bakterien eliminerades från miljön.

Hindra spridning av stafylokocker

Då stafylokocker i miljön kan leda till infektioner är en viktig del i hindrandet av smittspridning att bekämpa förekomsten av stafylokocker i miljön (Rampling *et al.*, 2001; Bergström *et al.*, 2012b). Stafylokocker kan precis som många andra bakterier bilda biofilm, vilket medför att de kan överleva länge i miljön eftersom det är svårt att städa bort dem. Då är mekanisk rengöring viktigt, för att avlägsna biofilmen och därmed bakterierna. Socialstyrelsen rekommenderar att basala hygienrutiner följs, vilket bland annat innebär att skyddskläder och handskar ska användas, att händer ska tvättas och desinfekteras och att man ska iaktta renlighet och god ordning. (Socialstyrelsen, 2011). Sveriges veterinärmedicinska sällskap (SVS) har tagit fram

riktlinjer för hur resistent bakterier bör hanteras, i detta ingår MRSA och MRSP. I dokumentet rekommenderas att material som ett djur som är infekterat med meticillinresistent stafylokokker rengörs vid kontamination eller varje vecka. De material som kan tvättas rekommenderas att tvättas i 60 °C, medan golv och andra ytor rekommenderas att rengöras med en tensid och sedan desinficeras med persyror (till exempel Virkon) eller alkohol. (SVS, 2016)

En amerikansk studie som undersökte effekten av rengöring av tangentbord påvisade en signifikant skillnad i förekomsten av stafylokokker på tangentborden när de rengjordes som vanligt, jämfört med när forskningsteamet instruerade personalen i rengöring med desinfektionsmedel eller alkohol. Utan påverkan från forskningsteamet påvisades stafylokokker på 20 av 35 prover, efter rengöringsinstruktioner påvisades stafylokokker i ett av fyra (alkohol) och fyra av 21 (desinfektionsmedel) prover (Bender *et al.*, 2012).

MATERIAL OCH METODER

Provtagningsytor

I denna studie togs totalt 68 miljöprover under fem veckors tid under september och oktober 2017. Provtagningsytorna klassades som humana tagytor och djurkontaktytor utifrån om människor eller djur förväntas ha mest kontakt med ytan. Exempel på humana tagytor är lampknappar, tangentbord och handtag, medan djurkontaktytor är till exempel golv, undersökningsbord och stolsben. De olika avdelningarna av djursjukhuset togs med (akutavdelningen, polikliniken, vårdavdelningen, infektionsavdelningen, operationsavdelningen och intensivvårdsavdelningen). Initialt togs poolade prover som antingen ansågs humana tagytor eller djurkontaktytor. Från de ytor som *S. aureus* eller *S. pseudintermedius* påvisades togs sedan ytterligare prover från mer specifika ytor/föremål. De ytor som provtogs var ytor där störst misstanke om MRSA/MRSP-förekomst fanns, baserat på Gustafssons examensarbete (2010) och kunskap om verksamheten.

Provtagning och odling av bakterier

Miljöprover togs med steril kompress (10x10 cm, Medioplast AB). Två kompresser lades i steril stomacherpåse och fuktades med 20 ml spädninglösning innehållandes NaCl (8,5 g/L) och pepton (1 g/L). För att minska risken för kontamination hanterades kompressen enbart med pincett eller med stomacherpåsen mellan och rena handskar användes. Kompresserna gnuggades hårt mot provtagningsytan. Inom 1h tillsattes 100 ml rumstempererad steril Mueller-Hinton-buljong (MH) med 6,5 % salthalt i påsen för anrikning. Påsarna inkuberades efter detta 24 h i 37 °C. Om påsen gick sönder vid provtagning trädde en ny påse på utanpå den gamla påsen eller så lades kompressen ned i en ny påse.

En buljong blandades av 100 ml Trypticase sojabuljong (TSB, artikelnummer 321563, SVA) med 4 % NaCl, fyra ml aztreonam (artikelnummer 320038, SVA) och 100 µl cefoxitin (artikelnummer 320039, SVA). Nio ml av denna buljong hällde ned i ett Falkonrör och sedan tillsattes en ml av MH-buljongen. Innan MH-buljong togs från stomacherpåsen blandades innehållet, för att få en så homogen buljong som möjligt. Proverna inkuberades i 24 h i 37 °C.

Proverna centrifugerades och därefter överfördes 20 µl från antibiotikabuljongen till nötblodagarplatta (5 % nötblod, SVA), MAST agarplatta (artikelnummer 342489, SVA) och chromogen agarplatta (Oxoid, PO5310 Brillance MRSA 2 agar). Dessa inkuberades i 37 °C i 24 h. Chromogena agarplattor inkuberades i ytterligare 24 h innan slutgiltig bedömning gjordes. Misstänka MRSA-/MRSP-kolonier renodlades på nötblodagar och inkuberades i 37 °C. Kolonier definierades som misstänkta om de hade klar hemolys på nötblodagar, rosa eller gula kolonier på MAST agar eller blå kolonier (framförallt duvblå och denimblå) på chromagar. I vissa fall gjordes direktmikroskopering av kolonimaterial, där klassades samtliga kocker som misstänkta. I de flesta fall renodlades tre till fem kolonier per prov, i undantagsfall renodlades färre kolonier eller maximalt sex kolonier. De lästes av efter 16 h och vid behov även efter 24 h. Om proven var i blandflora och det var svårigheter att få bakterierna i renkultur placerades en bit steril kompress fuktad med 95 % etanol i locket på petrisskålen för att minska risken för överväxt. I de fall som en överväxt av *Proteus* spp. eller andra svärmande bakterier förekom användes CLED-agarplatta. CLED-agarplattorna är tillverkade på institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap av pulver från Thermofisher Diagnostics AB. På plattor där renkultur inte kunde uppnås efter första renodlingsförsöket utfördes ytterligare renodling av misstänkta kolonier på nötblodagar, vilka inkuberades i 24 h i 37 °C.

Analys, typning och konfirmering

MALDI-TOF har visats ha en sensitivitet på 100 % när det gäller identifiering av stafylokocker på artnivånivå (Kassim *et al.*, 2017). MALDI-TOF användes för att identifiera misstänkta kolonier. Lite kolonimaterial från en isolerad koloni ströks på två spottar och sedan lades en μl matrix på vardera spot. Ett score value >2 ansågs som säkert identifierad koloni. Om *S. aureus* eller *S. pseudintermedius* identifierades med score value <2 gjordes MALDI-TOF om, denna gång med 1 μl myrsyra applicerad på spotten innan 1 μl matrix.

Kolonimaterial från konstaterade *S. aureus* eller *S. pseudintermedius* slammades upp i 1,5 ml BHI med glycerol och sparades -71°C . När provtagningen var klar togs en *S. aureus*-stam från varje provtagningsyta och samtliga *S. pseudintermedius* upp ur frysen och ett koklysats gjordes inför PCR. Koklysatsen gjordes enligt Capurro *et al.* (2009), med modifieringen att Tris-HCl hade pH 8,5, temperaturen vid kokning var $95-100^\circ\text{C}$ och centrifugering gjordes vid 13000 rpm i 5 min. Koklysatsen späddes 1:10 i milliporevatten.

Realtids-PCR för *nuc*, *mecA*, *mecC* och Panton-Valentine Leukocidin toxin (PVL) utfördes med utgång från Pichon *et al.* (2012) med modifieringen att amplifikationen gjordes med 50°C i 2 min och 95°C i 10 min. Till PCR togs ett isolat från varje positivt prov, i första hand de isolat som med MALDI-TOF identifierats som misstänka MRSA. För de prov där flera isolat var positiva för *S. aureus* eller *S. pseudintermedius* valdes ett slumpvist isolat ut.

Statistiska analys med chi²-test utfördes i datorprogrammet Minitab (Minitab Inc. Pennsylvania, USA). $P \leq 0,05$ ansågs vara signifikant.

För litteraturstudien användes sökmotorn PubMed och sökord som användes följande sökord i olika kombinationer: MRSA, prevalence, hospital, environment, surface, MRSP, methicillin resistant staphylococcus, *mec*, *mecC*, *mecA*, MALDI-TOF, *staphylococci*. Även litteratur på området användes.

RESULTAT

Totalt togs 68 miljöprover i miljön på smådjurskliniken, UDS. Proverna togs på såväl djurkontaktytor som humana tagytor. Växten av bakterier på blodagarplattorna och MAST-plattorna var generellt riklig. På de chromogena agarplattorna sågs inga kolonier med det utseende som är typiskt för MRSA eller MRSP.

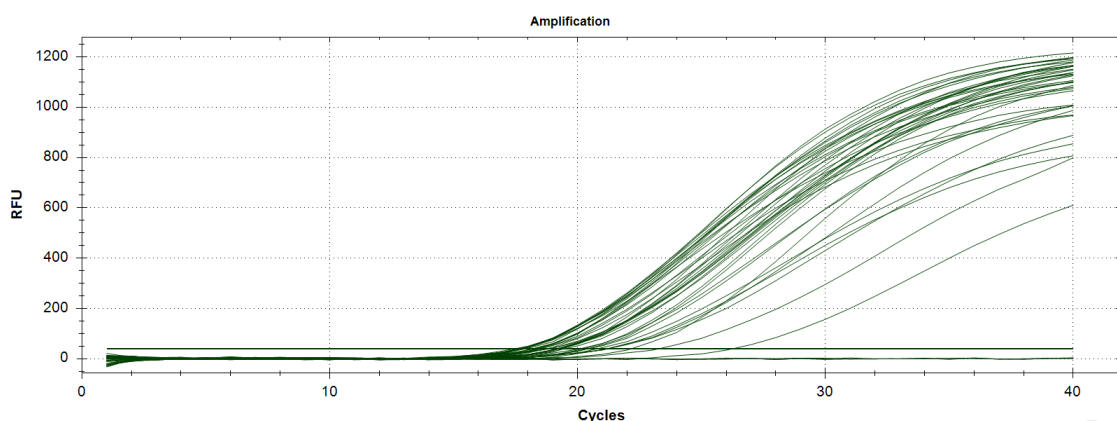
S. aureus identifierades på 60 % (41/68) av provtagna ytor. *S. pseudintermedius* identifierades på 4,4 % (3/68) provtagna ytor (Tabell 1). *S. pseudintermedius* påvisades på golvet i dermatologirummet, på lampa/lampknapp i tandrummet på operationsavdelningen och på golvet i akutens undersökningsrum. På golvet i akutens undersökningsrum påvisades även *S. aureus* och detta var det enda provtagningsstället där både *S. aureus* och *S. pseudintermedius* påvisades tillsammans (Tabell 2).

S. aureus påvisades i väntrum, på akutavdelningen, på vårdavdelningen, på polikliniken, i röntgenrum, i dermatologirummet, på intensivvårdsavdelningen, på operationsavdelningen och i studenternas lunchrum. Varken *S. aureus* eller *S. pseudintermedius* påvisades på akutooperation, ortopedioperation, infektionsavdelningen eller personalens lunchrum (Tabell 2). Ett chi2-test visade att det inte fanns något signifikant samband mellan förekomst av *S. aureus* och provtagningsplats ($p=0,534$). Av de *S. aureus* som påvisades identifierades isolat från 10 provtagningsplatser som presumtiva MRSA av MALDI-TOF.

I samtliga prover förutom tre kunde *nuc*-genen påvisas (Figur 1). De tre negativa isolaten överensstämde med de isolat som identifierats som *S. pseudintermedius* med MALDI-TOF. I alla isolat identifierade som *S. aureus* påvisades *nuc*-genen. Samtliga isolat var negativa för *mecA*-, *mecC*- och *PVL*-gener.

Tabell 1. Sammanställning provtagningsresultat från provtagning avseende *S. aureus* och *S. pseudintermedius* i miljön på smådjurskliniken, UDS

	Antal	Påvisad <i>S. aureus</i>	Påvisad <i>S. pseudintermedius</i>
Poolat prov humana tagytor	19	12	0
Poolat prov djurkontaktytor	11	5	0
Prov djurkontaktytor	10	5	2
Prov humana kontaktytor	28	19	1



Figur 1. PCR-resultat avseende *nuc*-genen.

Tabell 2. *Samtliga provtagningsställen och resultat MALDI-TOF. Negativt = varken S. aureus eller S. pseudintermedius påvisats. Ingen MALDI-TOF = att inga misstänkta kolonier fanns och därmed utfördes ingen MALDI-TOF. (a) = minst ett isolat identifierad som presumtiv MRSA*

	Provtagningsställe	Datum	Resultat MALDI-TOF
1	Akutoperation, humana tagställen	2017-09-10	Negativt
2	Entré / Yttre väntrum djurkontakt	2017-09-10	Negativt
3	Entré / Yttre väntrum humana tagställen	2017-09-10	<i>S. aureus</i>
4	Inre väntrum humana tagställen	2017-09-10	<i>S. aureus</i>
5	Inre väntrum djurkontakt	2017-09-10	<i>S. aureus</i>
6	Akutrum djurkontakt	2017-09-10	<i>S. aureus</i>
7	Akutrum humana tagställen	2017-09-10	<i>S. aureus</i> (a)
8	Skötersketorg humana tagställen	2017-09-10	<i>S. aureus</i>
9	Vårdavdelningen kontor	2017-09-10	<i>S. aureus</i>
10	Vårdavdelningen behandlingsrum, djurkontakt	2017-09-10	<i>S. aureus</i>
11	Vårdavdelningen behandlingsrum, humana tagställen	2017-09-10	<i>S. aureus</i> (a)
12	Röntgenrum humana tagställen	2017-09-18	<i>S. aureus</i>
13	Dermatologikum humana tagställen	2017-09-18	<i>S. aureus</i> (a)
14	Dermatologikum djurkontakt	2017-09-18	<i>S. aureus</i> (a)
15	Ortopedioperation humana tagställen	2017-09-18	Ingen MALDI-TOF
16	Tandrum operation humana tagställen	2017-09-18	<i>S. aureus</i>
17	Förberedelserum operation humana tagställen	2017-09-18	<i>S. aureus</i>
18	Förberedelserum operation djurkontakt	2017-09-18	Negativt
19	Lunchrum studenter humana tagtor	2017-09-18	<i>S. aureus</i>
20	Lunchrum anställda humana tagtor	2017-09-18	Ingen MALDI-TOF
21	Undersökningsrum poliklinik djurkontakt	2017-09-18	<i>S. aureus</i>
22	Undersökningsrum poliklinik humana tagtor	2017-09-18	Negativt
23	Infektionsavdelningen väntrum humana tagtor	2017-09-24	Negativt
24	Infektionsavdelningen väntrum djurkontakt	2017-09-24	Negativt
25	Infektionsavdelningen undersökningsrum humana tagtor	2017-09-24	Negativt
26	Infektionsavdelningen undersökningsrum djurkontakt	2017-09-24	Negativt
27	Infektionsavdelningen behandlingsrum humana tagtor	2017-09-24	Negativt
28	Infektionsavdelningen behandlingsrum djurkontakt	2017-09-24	Ingen MALDI-TOF
29	Entré/ yttre väntrum bänkar/hyllor	2017-09-24	<i>S. aureus</i>
30	Entré/yttre väntrum dörrhandtag	2017-09-24	<i>S. aureus</i> (a)
31	Inre väntrum handdesinfektionspump	2017-09-24	Negativt
32	Inre väntrum dörrhandtag	2017-09-24	<i>S. aureus</i>
33	Inre väntrum golv	2017-09-24	<i>S. aureus</i>
34	Inre väntrum ”stolsben”	2017-09-24	Negativt
35	Intensivvårdsavdelningen djurkontakt	2017-10-01	Ingen MALDI-TOF
36	Intensivvårdsavdelningen humana tagtor	2017-10-01	<i>S. aureus</i>
37	Akutrum golv 2 st	2017-10-01	<i>S. aureus</i> (a), <i>S. pseudintermedius</i>
38	Akutrum undersökningsbord 2 st	2017-10-01	<i>S. aureus</i>
39	Akutrum datorstation 2 st	2017-10-01	<i>s. aureus</i>

40	Akutrum lampknapp / lampa 2 st	2017-10-01	<i>S. aureus</i> (a)
41	Skötersketorg tangentbord	2017-10-01	<i>S. aureus</i>
42	Skötersketorg akuttavla	2017-10-01	<i>S. aureus</i>
43	Vårdavdelningen kontor datorstation 2 st	2017-10-01	<i>S. aureus</i>
44	Vårdavdelningen kontor handtag	2017-10-01	<i>S. aureus</i>
45	Vårdavdelningen behandlingsrum bord 3 st	2017-10-01	Ingen MALDI-TOF
46	Vårdavdelningen behandlingsrum golv 3 st	2017-10-01	<i>S. aureus</i>
47	Vårdavdelningen behandlingsrum datorstation 3 st	2017-10-01	<i>S. aureus</i> (a)
48	Vårdavdelningen behandlingsrum lampa/lampknapp 3 st	2017-10-01	Ingen MALDI-TOF
49	Röntgenrum strålkällan	2017-10-08	<i>S. aureus</i>
50	Röntgenrum bord (humana tagställen)	2017-10-08	<i>S. aureus</i> (a)
51	Dermatologikum datorstation	2017-10-08	<i>S. aureus</i>
52	Dermatologikum lampa/lampknapp	2017-10-08	Ingen MALDI-TOF
53	Dermatologikum bord	2017-10-08	Ingen MALDI-TOF
54	Dermatologikum golv	2017-10-08	<i>S. pseudintermedius</i>
55	Tandrum operationsavdelningen handtag	2017-10-08	Ingen MALDI-TOF
56	Tandrum operationsavdelningen lampa/lampknapp	2017-10-08	<i>S. pseudintermedius</i>
57	Lunchrum studenter bord	2017-10-08	Ingen MALDI-TOF
58	Lunchrum studenter micro	2017-10-08	<i>S. aureus</i> (a)
59	Undersökningsrum poliklinik bord 3 st	2017-10-08	Ingen MALDI-TOF
60	Undersökningsrum poliklinik golv 3 st	2017-10-08	<i>S. aureus</i>
61	Skötersketorg handtag	2017-10-08	<i>S. aureus</i>
62	Dermatologikum handtag	2017-10-08	Ingen MALDI-TOF
63	Vårdavdelningen behandlingsrum handtag 3 st	2017-10-13	<i>S. aureus</i>
64	Vårdavdelningen kontor bänkar	2017-10-13	<i>S. aureus</i>
65	Lunchrum studenter handtag	2017-10-13	Ingen MALDI-TOF
66	Intensivvårdsavdelningen lampa/lampknapp	2017-10-13	<i>S. aureus</i>
67	Intensivvårdsavdelningen datorstation 2 st	2017-10-13	<i>S. aureus</i>
68	Intensivvårdsavdelningen handtag	2017-10-13	Ingen MALDI-TOF

DISKUSSION

Inga meticillinresistenta stafylokocker kunde påvisas i denna undersökning. Resultatet skiljer sig från många studier som undersökt förekomsten av meticillinresistenta stafylokocker i miljöer inom human- och djurvården (Gustafsson, 2010; Hoet *et al.*, 2011; Bergström *et al.*, 2012a; van Balen *et al.*, 2014; Bortolami *et al.*, 2017; Fungwithaya *et al.*, 2017; Rojas *et al.*, 2017). I en studie av Weese *et al.* (2004) från Kanada påvisades ingen MRSA i miljön på smådjurskliniken, men det kunde däremot påvisas på hästkliniken. I den studien låg dock tyngdpunkten av provtagningen på hästkliniken och väldigt få prover togs på smådjurskliniken. En av anledningarna till att få artiklar överensstämmer med resultatet i denna studie, att inga meticillinresistenta stafylokocker kunde påvisas i miljöer, kan bero på att det ses som ett "icke-resultat" och därmed inte publiceras.

Flertalet av de publicerade studierna avseende förekomst av MRSA och MRSP i miljöer är genomförda i andra länder än Sverige, där resistensläget i många fall ger en större utmaning vad gäller förekomst av MRSA och MRSP (ECDC, 2017). De svenska studier som finns på ämnet publicerades år 2010 respektive 2012, och sedan dess kan resistensläget ändrats och kunskapen ökat gällande meticillinresistenta stafylokocker.

I en amerikansk studie förekom en prevalens på 0,0 % MRSA i miljöprover under en provtagningsomgång (van Balen *et al.*, 2014). Provtagningen i den studien skedde under ett års tid och det var bara under en månad som ingen MRSA kunde påvisas. Detta tyder på att det kan finnas en fluktuation i förekomsten av MRSA i miljön. Gustafsson (2010) påvisade att en provtagningsplats kan vara negativ för *S. aureus* vid ett provtagningsstillfälle men att *S. aureus* kan påvisas vid ett annat tillfälle. van Balen *et al.* (2014) visade att säsongen hade signifikant påverkan på förekomsten av MRSA i miljön, under hösten var prevalensen som högst och under sommaren var den som lägst. Proverna i denna studie togs i slutet av sommaren och början av hösten. Att årstiden kan vara en bidragande faktor till att inga meticillinresistenta stafylokocker påvisades kan inte uteslutas.

Provtagningen ger enbart en ögonblicksbild, vilket innebär att frånvaro av förekomst vid ett tillfälle inte kan utesluta förekomst vid ett annat tillfälle. Trots att inga meticillinresistenta stafylokocker påvisats i denna studie går det inte att utesluta att det förekom i miljön på smådjurskliniken vid provtagningstiden. Det är möjligt att det inte finns några meticillinresistenta stafylokoer i miljön men det finns också flera tänkbara felkällor:

- Meticillinresistenta stafylokocker finns i miljön men inte på den plats där provet togs.
- Meticillinresistenta stafylokocker fanns på platsen där provet togs men tekniken gjorde att de ej följde med kompressen från underlaget.
- Meticillinresistenta stafylokocker följde med vid provtagningen men växte inte fram vid inkubering och odling, till exempel på grund av konkurrens från andra bakterier.
- Meticillinresistenta stafylokocker växte fram vid odling men kolonierna valdes ej för vidare diagnostik, till exempel på grund av icke-karaktäristiskt utseende eller ett flertal kolonier av karaktäristiskt utseende som ej var meticillinresistenta.
- Bakterierna identifierades ej som *S. aureus* eller *S. pseudintermedius* av MALDI-TOF.
- Meticillinresistenta stafylokocker identifierades korrekt av MALDI-TOF men det isolatet valdes ej till PCR-undersökning.

- Vid PCR-undersökning påvisades inte *mecA* eller *mecC*, antingen på grund av felaktig analys eller på grund av att isolatet, trots att det var meticillinresistent, ej bar på någon av resistensgenerna.

Den odlingsmetod som användes i detta arbete är samma metod som används på Statens Veterinärmedicinska Anstalt (SVA) vid odling av MRSA och MRSP från misstänka bärardjur. Med exakt samma metod, från provtagning till PCR, har förekomst av MRSA kunnat påvisas i miljön på hästkliniken UDS (Jansson, 2018). Odlingsmetoden som användes av Gustafsson (2010) var mycket lik metoden i denna studie, och i Gustafssons studie (2010) påvisades både MRSA och MRSP i miljöprover.

Vid provtagningen i denna studie användes sterila kompresser fuktade med en spädningsvätska innehållandes NaCl (8,5 g/L) och pepton (1 g/L). Andra studier har använt Sodibox (ett provtagningskit för miljöprovtagning som består av en duk fuktad med en peptonlösning innehållandes neutraliserande ämnen som ska motverka eventuella desinfektionsämnen i provet) Swiffer-trasor (en elektrostatisk städ-produkt från Proctor and Gamble) och bomullspinnar eller bara bomullspinnar som fuktats med steril natriumkloridlösning (Weese *et al.*, 2004; Gustafsson, 2010; Hoet *et al.*, 2011; Bergström *et al.*, 2012a).

I denna studie används MALDI-TOF för att artbestämma bakterier. Flera studier har använt gramfärgning, enzymatiska tester och liknande metoder (Weese *et al.*, 2004; Gustafsson, 2010; Kurashige, Oie & Furukawa, 2016). Eftersom MALDI-TOF har en sensitivitet på 100 % för stafylokocker bedöms samtliga bakterier identifierats korrekt (Kassim *et al.*, 2017). Att *nuc*-genen påvisades i samtliga *S. aureus*-isolat styrker att dessa blivit korrekt identifierade.

I denna studie gjordes ingen fenotypisk typning av *S. aureus*-isolaten för att undersöka om de var MRSA, till skillnad från andra studier (Hoet *et al.*, 2011; Rojas *et al.*, 2017). Då samtliga MRSA-isolat i Sverige (Swedres-Svarm, 2016) och även i utländska studier (Hoet *et al.*, 2011; Rojas *et al.*, 2017) varit positiva för antingen *mecA* eller *mecC* bedöms den genotypiska undersökningen som gjordes med PCR vara en säker metod för att identifiera MRSA. Samtliga stafylokocker som fenotypiskt klassades som MRSA eller MRSP i Gustafssons studie (2010) vid UDS var positiva för *mecA* vid PCR. Att först undersöka för förekomst av resistensgener och sedan utföra microdilutation tycks vara en ovanlig ordningsföljd jämfört med andra källor, men används i samband med screening av MRSA i betalaktamasproducerande *S. aureus* från mjölkkor (Swedres-Svarm, 2016).

I studien fanns möjlighet att undersöka ett *S. aureus*-isolat per provtagningsplats med PCR. I första hand valdes då de isolat som vid undersökning med MALDI-TOF identifierats som möjliga MRSA-isolat. Inga av de misstänkta MRSA bar på *mecA* eller *mecC*. Som konstateras i stycket ovan har samtliga MRSA-isolat i flera studier varit positiva för antingen *mecA* eller *mecC* (Hoet *et al.*, 2011; Swedres-Svarm, 2016; Rojas *et al.*, 2017), vilket tyder på att MALDI-TOF inte är ett trovärdigt instrument när det gäller att identifiera misstänkta MRSA-isolat.

Vid PCR-analys kunde *nuc* påvisas i samtliga testade isolat av *S. aureus*. Den primer som användes för detektion av *nuc* var designad som en *S. aureus*-specifik primer. Att samtliga *S. aureus* var positiva för *nuc* stämmer med det förväntade resultatet, och stämmer även överens med en tidigare studie då samma primers användes (Pichon *et al.*, 2012). Primern har tidigare inte testats på *S. pseudintermedius* men däremot har *nuc* inte kunnat påvisas hos meticillinresistenta koagulasnegativa stafylokocker med denna primer (Pichon *et al.*, 2012). I denna

studie var de tre isolaten av *S. pseudintermedius* negativa för *nuc*, vilket tyder på att primern är specifik för *S. aureus*.

S. aureus fanns på 60 % av provtagna ytor. Då detta är en vanlig bakterie hos människor kan det misstänkas att de kommit in i verksamheten via personalen, även om patienterna också är en möjlig källa då *S. aureus* kan finnas hos friska och sjuka djur. *S. aureus* påträffades på både humana tagytor och djurkontaktytor, vilket tyder på att både djur och människor bidragit till förekomsten av *S. aureus* i miljön.

I denna studie påvisades ingen signifikant skillnad vad gäller förekomst av *S. aureus* på djurkontaktytor jämfört med humana kontaktytor. Andra studier har visat att ingen signifikant skillnad kan påvisas i förekomsten av MRSA vad gäller djurkontaktytor jämfört med humana kontaktytor, både på inom smådjurskliner och hästkliniker (Hoet *et al.*, 2011; van Balen *et al.*, 2014; Rojas *et al.*, 2017).

Jämfört med Gustafsson (2010) påvisades *S. pseudintermedius* på få provtagningsplatser. I denna studie påvisades *S. pseudintermedius* på tre av 68 provtagningsplatser, medan Gustafsson (2010) påvisade *S. pseudintermedius* på 12 av 56 provtagningsplatser. Det var först i det 37e provet som *S. pseudintermedius* påvisades, därför är det möjligt att provtagningsmetoden utvecklades under studiens gång vilket möjliggjorde upptäckten av isolatet.

S. pseudintermedius påvisades på golvet i undersökningsrummen på akutavdelningen, på golvet i dermatologirummet och på lampa/lampknapp i tandrummet på operationsavdelningen. Detta är två djurkontaktytor och en humankontaktyta. Golvet i akutrummen är ett ställe som många djur passerar och det kan ibland vara svårt för personalen att hinna städa rummen ordentligt när det är många patienter inne. Det höga djurflödet och svårigheterna att hinna rengöra riskerar att göra akutrummen till en risk för smittspridning.

Intressant är att varken *S. aureus* eller *S. pseudintermedius* påvisades på infektionsavdelningen i denna studie. I UDS gamla lokaler påvisades MRSP på infektionsavdelningen (Gustafsson, 2010). Eftersom patienter med misstänkt smittsamma sjukdomar i första hand vårdas på infektionsavdelningen kan ett högre smittryck förväntas på den avdelningen. Därför var infektionsavdelningen en av de platser som på förhand misstänktes vara mest troligt att meticillinresistenta stafylokocker skulle påvisas. Djursjukhusets hygienrutiner är troligtvis en bidragande faktor till att varken *S. aureus* eller *S. pseudintermedius* kunde påvisas, men det skulle också kunna bero på att genomströmningen av personer och djur hålls ned i möjligaste mån.

Dermatologirummet är en annan plats som på förhand kunde misstänkas vara mer troligt att MRSA eller MRSP skulle påvisas i, då MRSA och MRSP är vanliga agens vid hudinfektioner (Morris *et al.*, 2006; Bardiau *et al.*, 2013). I dermatologirummet påvisades både *S. aureus* och *S. pseudintermedius*, men det fanns prover från dermatologirummet där inga misstänkta kolonier identifierades. *S. aureus* påvisades på datorstationen och *S. pseudintermedius* påvisades på golvet. Gustafsson (2010) påvisade förekomst av MRSA vid provtagning av humana tagytor i dermatologirummet i UDS:s gamla lokaler. Vid ett av provtagningsstillfällena i dermatologirummet gick det tydligt att känna doften av rengöringsmedel, något som inte är så vanligt förekommande i övriga undersökningsrum. Det är möjligt att dermatologirummet har särskilda hygienrutiner på grund av den ökade risken för resistent bakterier.

KONKLUSION

I denna studie påvisades inga meticillinresistenta stafylokocker i miljön på smådjurskliniken på UDS, Uppsala. Trots detta resultat går det ej att utesluta att meticillinresistenta stafylokocker förekommer i miljön då provtagningen endast ger en ögonblicksbild av bakterieförekomsten. Det finns dessutom flera tänkbara felkällor till resultatet, till exempel val av provtagningsplatser, provtagningsteknik och odling av proven. I studien sågs ingen koppling mellan humana tagytor och djurkontaktytor till förekomst av stafylokocker.

S. aureus förekommer på en majoritet av provtagna ytor. Då *S. aureus* i första hand finns i normalfloran på människor går det inte att utesluta att de spridits i miljön av människor. För att kunna dra några tydligare slutsatser och vidare undersöka om meticillinresistenta stafylokocker förekommer i miljön på smådjurskliniken på UDS krävs en mer kontinuerlig provtagning av miljön.

REFERENSER

- Abraham, J.L., Morris, D.O., Griffeth, G.C., Shofer, F.S., Rankin, S.C. (2007). Surveillance of healthy cats and cats with inflammatory skin disease for colonization of the skin by methicillin-resistant coagulase-positive staphylococci and *Staphylococcus schleiferi* ssp. *schleiferi*. *Veterinary Dermatology* 18, 252–259.
- Ballhausen, B., Kriegeskorte, A., Schleimer, N., Peters, G., Becker, K. (2014). The mecA homolog mecC confers resistance against β -Lactams in *Staphylococcus aureus* irrespective of the genetic strain background. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 58, 3791–3798.
- Bannoehr, J., Ben Zakour, N.L., Waller, A.S., Guardabassi, L., Thoday, K.L., van den Broek, A.H.M., Fitzgerald, J.R. (2007). Population genetic structure of the *Staphylococcus intermedius* group: insights into agr diversification and the emergence of methicillin-resistant strains. *Journal of Bacteriology* 189, 8685–8692.
- Barber, M. (1961). Methicillin-resistant staphylococci. *Journal of Clinical Pathology* 385–393.
- Bardiau, M., Yamazaki, K., Ote, I., Misawa, N., Mainil, J.G. (2013). Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from dogs and cats: MRSP from dogs and cats. *Microbiology and Immunology* 495–501.
- Bender, J.B., Schiffman, E., Hiber, L., Gerads, L., Olsen, K., (2012). Recovery of staphylococci from computer keyboards in a veterinary medical centre and the effect of routine cleaning. *Veterinary Record* 170, 414–414
- Bergström, A., Gustafsson, C., Leander, M., Fredriksson, M., Grönlund, U., Trowald-Wigh, G., (07/2012a). Occurrence of methicillin-resistant staphylococci in surgically treated dogs and the environment in a Swedish animal hospital. *Journal of Small Animal Practice* 53, 404–410.
- Bergström, K., Aspan, A., Landén, A., Johnston, C., Grönlund-Andersson, U., (2012b). The first nosocomial outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in horses in Sweden. *Acta Veterinaria Scandinavica* 54, 11
- Bortolami, A., Williams, N.J., McGowan, C.M., Kelly, P.G., Archer, D.C., Corrà, M., Pinchbeck, G., Saunders, C.J., Timofte, D., (2017). Environmental surveillance identifies multiple introductions of MRSA CC398 in an Equine Veterinary Hospital in the UK, 2011–2016. *Scientific Reports* 7.
- Capurro, A., Artursson, K., Waller, K., Bengtsson, B., Ericsson Unnerstad, H., Aspan, A., (2009). Comparison of a commercialized phenotyping system, antimicrobial susceptibility testing, and tuf gene sequence-based genotyping for species-level identification of coagulase-negative staphylococci isolated from cases of bovine mastitis. *Veterinary Microbiology* 134, 327–333.
- Devriese LA., 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. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 55, 1569–1573.
- European Centre for Disease Prevention and Control, (2017). Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2015. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) (SURVEILLANCE REPORT). Stockholm.
- Federley, F., (2017). ”Antibiotikaresistensen skördar tusentals liv redan idag” [WWW Document]. svt.se. URL (accessed 12.8.17).
- Fungwithaya, P., Brikshavana, P., Chanchaithong, P., Prapasarakul, N., (2017). Distribution of methicillin-resistant coagulase-positive staphylococci (MRCoPS) in a surgical unit and cystotomy operation sites in a veterinary teaching hospital. *Journal of Veterinary Medical Science* 79, 359–365

- Griffeth, G.C., Morris, D.O., Abraham, J.L., Shofer, F.S., Rankin, S.C., (2008). Screening for skin carriage of methicillin-resistant coagulase-positive staphylococci and *Staphylococcus schleiferi* in dogs with healthy and inflamed skin. *Veterinary Dermatology* 19, 142–149.
- Grönthal, T., Moodley, A., Nykäsenoja, S., Junnila, J., Guardabassi, L., Thomson, K., Rantala, M., (2014). Large outbreak caused by methicillin resistant *Staphylococcus pseudintermedius* ST71 in a Finnish veterinary teaching hospital – from outbreak control to outbreak prevention. *PLoS ONE* 9, e110084. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110084>
- Gustafsson, C., (2010). Förekomst av meticillinresistenta *Staphylococcus* spp. i djursjukhusmiljö. Sveriges lantbruksuniversitet. Veterinärprogrammet (Examensarbete 2010:32).
- Hajek, V., (1976). *Staphylococcus intermedius*, a new species isolated from animals. *International Journal of Systematic Bacteriology* 26, 401–408
- Hoet, A.E., Johnson, A., Nava-Hoet, R.C., Bateman, S., Hillier, A., Dyce, J., Gebreyes, W.A., Wittum, T.E., (2011). Environmental methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a veterinary teaching hospital during a nonoutbreak period. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 11, 609–615.
- Ishihara, K., Koizumi, A., Saito, M., Muramatsu, Y., Tamura, Y., (2016). Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* ST169 and novel ST354 SCCmec II–III isolates related to the worldwide ST71 clone. *Epidemiology and Infection* 144, 434–442.
- Jansson, I., (2018). Förekomst av meticillinresistenta *Staphylococcus* spp. i djursjukhusmiljö med fokus på hästsjukhus. En miljöstudie. Sveriges lantbruksuniversitet. Veterinärprogrammet (Examensarbete 2018:83).
- Jevons, M.P., (1961). “Celbenin”-resistant Staphylococci. *British Medical Journal* 124–125.
- Kang, J.-H., Chung, T.-H., Hwang, C.-Y., (2017). Clonal distribution of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from skin infection of dogs in Korea. *Veterinary Microbiology* 210, 32–37.
- Kassim, A., Pflüger, V., Premji, Z., Daubenberger, C., Revathi, G., (2017). Comparison of biomarker based Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) and conventional methods in the identification of clinically relevant bacteria and yeast. *BMC Microbiology* 17.
- Khairalla, A.S., Wasfi, R., Ashour, H.M., (2017). Carriage frequency, phenotypic, and genotypic characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from dental health-care personnel, patients, and environment. *Scientific Reports* 7.
- Klarin, G., (2017). Ny antibiotika dödar även resistenta bakterier [WWW Document]. sverigesradio.se. URL <http://sverigesradio.se/sida/artikel.aspx?programid=406&artikel=6828785> (accessed 12.8.17).
- Kurashige, E.J.O., Oie, S., Furukawa, H., (2016). Contamination of environmental surfaces by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in rooms of inpatients with MRSA-positive body sites. *Brazilian Journal of Microbiology* 47, 703–705.
- Lehner, G., Linek, M., Bond, R., Lloyd, D.H., Prenger-Berninghoff, E., Thom, N., Straube, I., Verheyen, K., Loeffler, A., (2014). Case–control risk factor study of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) infection in dogs and cats in Germany. *Veterinary Microbiology* 168, 154–160
- Lozano, C., Rezusta, A., Ferrer, I., Pérez-Laguna, V., Zarazaga, M., Ruiz-Ripa, L., Revillo, M.J., Torres, C., (2017). *Staphylococcus pseudintermedius* human infection cases in Spain: dog-to-human transmission. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 17, 268–270.

- Morris, D.O., Rook, K.A., Shofer, F.S., Rankin, S.C., (2006). Screening of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, and *Staphylococcus schleiferi* isolates obtained from small companion animals for antimicrobial resistance: a retrospective review of 749 isolates (2003?04). *Veterinary Dermatology* 17, 332–337.
- Pichon, B., Hill, R., Laurent, F., Larsen, A.R., Skov, R.L., Holmes, M., Edwards, G.F., Teale, C., Kearns, A.M., (2012). Development of a real-time quadruplex PCR assay for simultaneous detection of nuc, Panton-Valentine leucocidin (PVL), mecA and homologue mecALGA251. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 67, 2338–2341
- Rampling, A., Wiseman, S., Davis, L., Hyett, A.P., Walbridge, A.N., Payne, G.C., Cornaby, A.J., (2001). Evidence that hospital hygiene is important in the control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Hospital Infection* 49, 109–116.
- Rojas, I., Barquero-Calvo, E., van Balen, J.C., Rojas, N., Muñoz-Vargas, L., Hoet, A.E., (2017). High prevalence of multidrug-resistant community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at the largest veterinary teaching hospital in Costa Rica. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 17, 645–653.
- Sasaki, T., Kikuchi, K., Tanaka, Y., Takahashi, N., Kamata, S., Hiramatsu, K., (2007). Reclassification of phenotypically identified *Staphylococcus intermedius* strains. *Journal of Clinical Microbiology* 45, 2770–2778.
- Smittskyddslagen (2004). Stockholm. (2004:168).
- Socialstyrelsen, (2011). MRSA hos häst, hund och katt. Rekommendationer för handläggning. Föreskrifter om ändring i Statens jordbruksverks föreskrifter om anmälningspliktiga djursjukdomar och smittämnen;, K4 (2012). Jönköping. (SJVFS 2012:24).
- Statens jordbruksverk, Statens jordbruksverks föreskrifter och allmänna råd om förebyggande och särskilda åtgärder avseende hygien m.m. för att förhindra spridning av zoonoser och andra smittämnen;, K112 (2013). Jönköping. (SJVFS 2013:14).
- Statens veterinärmedicinska anstalt, (2017). MRSA hos djur i Sverige [WWW Document]. sva.se. URL <http://www.sva.se/antibiotika/anmalningspliktig-resistens/mrsa/mrsa-hos-djur-i-sverige> (accessed 12.10.17).
- Sveriges veterinärmedicinska sällskap, (2016). Riktlinjer för hantering av hund- och kattpatienter med bakterier med särskild resistens.
- Swedres-Svarm, (2016). Consumption of antibiotics and occurrence of resistance in Sweden. Solna/Uppsala.
- Talan, D.A., Staatz, D., Staatz, A., Goldstein, E.J., Singer, K., Overturf, G.D., (1989). *Staphylococcus intermedius* in canine gingiva and canine-inflicted human wound infections: laboratory characterization of a newly recognized zoonotic pathogen. *Journal of Clinical Microbiology* 27, 78–81.
- van Balen, J., Mowery, J., Piraino-Sandoval, M., Nava-Hoet, R.C., Kohn, C., Hoet, A.E., (2014). Molecular epidemiology of environmental MRSA at an equine teaching hospital: introduction, circulation and maintenance. *Veterinary Research* 45, 31
- Weese, J.S., DaCosta, T., Button, L., Goth, K., Ethier, M., Boehnke, K., (2004). Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from the environment in a veterinary teaching hospital. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 18, 468–470.
- Weese, J.S., Fulford, M.B. (Eds.), (2011). Companion animal zoonoses. Wiley-Blackwell, Ames, Iowa.

Windahl, U. (2015).. *Bacterial infections in dogs with special reference to urinary tract infections, surgical site infections and methicillin-resistant Staphylococcus pseudintermedius*. Diss.Uppsala: Sveriges lantbruksuniversitet.