



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

**Fakulteten för veterinärmedicin
och husdjursvetenskap**
Institutionen för kliniska vetenskaper

Förekomst av meticillinresistenta *Staphylococcus* spp i djursjukhusmiljö med fokus på hästsjukhus

Ida Jansson

*Uppsala
2017*

Examensarbete 30 hp inom veterinärprogrammet

*ISSN 1652-8697
Examensarbete 2018:83*

Förekomst av meticillinresistenta *Staphylococcus* spp i djursjukhusmiljö med fokus på hästsjukhus

The presence of meticillin resistant *Staphylococcus* spp in animal hospitals with focus on equine hospital

Ida Jansson

Handledare: Ingrid Hansson, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Biträdande handledare: Henrik Ericsson, Universitetsdjursjukhuset

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 2018:83

ISSN: 1652-8697

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

Nyckelord: MRSA, resistens, *Staphylococcus aureus*, häst, klinik, djursjukhus

Key words: MRSA, resistance, *Staphylococcus aureus*, horse, clinic, animal hospital

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för kliniska vetenskaper

SAMMANFATTNING

Resistens mot antibiotika är ett ökande problem i samhället idag och det drabbar inte bara människor och humansjukvården, utan även djursjukvården. Utvecklingen inom djurens hälso- och sjukvård går mot alltmer avancerade behandlingar och ingrepp som, liksom humansjukvården många gånger kräver antibiotika för att kunna genomföras. Samma principer för resistensutveckling verkar dock gälla inom djursjukvården som inom humansjukvården, flera studier visar att resistenta bakterier förekommer i miljön även på djursjukhus.

Denna studie syftar till att undersöka förekomsten av meticillinresistenta *Staphylococcus aureus* samt *Staphylococcus pseudintermedius* i miljön på ett hästsjukhus i Sverige. Ett utbrott av meticillinresistenta *Staphylococcus aureus* (MRSA) hade förekommit på sjukhuset ett par månader innan studiens genomförande. Miljöprovtagning ca 3 veckor innan studiens provtagningar inleddes kunde dock inte påvisa någon MRSA i miljön.

Proverna togs med fuktade sterila svabbar och bakterier anrikades i buljong i två steg innan de odlades på blod samt MAST och chrom-agarplattor, vilka är selektiva plattor för *Staphylococcus* spp. Misstänkta kolonier artbestämdes med hjälp av MALDI-TOF och resistensgenerna *mecA* och *mecC/mecA_{LGA251}* samt genen *nuc* (som finns hos alla *S. aureus*) och genen som kodar för Panton-Valentin leukocidine (PVL) toxin identifierades med hjälp av *q*-PCR.

Av 65 tagna prover kunde *S. aureus* påvisas i 24 av dem, varav tre var positiva för *mecA*-genen och betraktades därmed som meticillinresistenta *S. aureus*, MRSA. Inte i något prov kunde *S. pseudintermedius* påvisas. Av de tre MRSA-proverna togs två från strikta humankontaktytor, bärbara telefoner respektive reception, medan det tredje var ett poolat prov taget i ett av intensivvårdsställen.

Biofilmbildande bakterier som *S. aureus* är svåra att tvätta bort. De nya rutiner som införts på det aktuella hästsjukhuset verkar vara effektiva då MRSA inte kunde påvisas igen vid uppföljande provtagningarna av de tidigare MRSA-positiva ytorna. Den typ av MRSA som identifierades vid det tidigare utbrottet på hästsjukhuset tillhörde en i Sverige relativt ovanlig humanstam, t1257. Den har tidigare främst påträffats hos människa i Afrika. Typning av MRSA-isolatet som hittades i denna studie genomfördes inte, men vid jämförelsen av masspektrat från MALDI-TOF analysen sågs ingen skillnad mellan påvisade isolat och de två stammar med humant ursprung som användes som kontroller vid körningen. Utan typning med avseende på CC/ST och *spa*-typ går det inte att säkert avgöra ursprung eller relatera den till det tidigare utbrottet. Att två av tre MRSA-positiva prover togs från strikt humana kontaktytor; på telefoner och i receptionen, samt likheten med humanstammarna, ger dock en indikation på att ursprunget skulle kunna vara humant. Att MRSA åter påvisats trots tidigare rengöring och friförklaring kan bero på att den cirkulerar i klinikmiljön, delvis buren och spridd av personal, eller att den introducerats med en ny patient eller djurägare.

SUMMARY

Bacteria resistant to antibiotics is an increasing problem worldwide, not only in human medicine, but also when treating sick animals. As in human medicine, the trend in veterinary hospitals, is more sophisticated treatments and procedures, which in many cases requires peri operational treatment with antibiotics. Unfortunately, as seen in people, the prevalence of bacteria resistant to antibiotics seems to rise and resistant bacteria are found in animal hospitals in many parts of the world.

The objective in this study is to investigate the presence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in an equine animal hospital in Sweden. There had been an outbreak of MRSA in the equine hospital targeted, only months prior to this study. However, environmental samples taken just three weeks before tested negative for MRSA, so the hospital was considered free from the outbreak.

Samples were taken using sterile swabs, which were incubated in two types of broth in two following steps, before cultured on three types of agar plates: bovine blood, MAST and chromogenic. Suspected colonies were analysed using MALDI-TOF and confirmed *S. aureus* were further analysed with *q*-PCR, for *mecA* and *mecC*, genes carrying resistance to methicillin, as well as *nuc* and PVL.

From the 65 samples taken, *S. aureus* could be detected in 23, three of them carried the *mecA*-gene hence being regarded methicillin resistant. *Staphylococcus pseudintermedius* was not found in any of the samples. Of the three MRSA samples, two were taken from strictly human contact surfaces, telephones and the reception area whereas the third was a pooled sample taken in one of the stables of the intensive care unit.

S. aureus is known to form biofilms which are considered very difficult to eradicate, but the cleaning routines at this hospital appear sufficient since the one MRSA positive surface where follow up samples were taken, MRSA could not be isolated again. The outbreak proceeding this study, were caused by a human strain, t1257, previously found in Africa. The MRSA found in this study was not sequenced, but when comparing the characteristic mass-spectrum from MALDI-TOF one could not separate the detected isolates from the two human strains used as controls. Without determining CC/ST and *spa*-type for the MRSA found in the study, no conclusion on connection between the findings of environmental MRSA can be drawn. However, two of the three MRSA samples were taken from strictly human contact surfaces and the similarity to the two human strains with MALDI-TOF indicate that there might be a human source to these positive samples. Thus, the presence of MRSA at the hospital could either be due to a circulating “in-house” strain or introduction from a more recent patient.

INNEHÅLL

Ordlista.....	1
Inledning.....	2
Litteraturoversikt.....	3
<i>Staphylococcus</i> spp.....	3
<i>Staphylococcus aureus</i>	3
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	3
Resistens och klassificering.....	3
Lagstiftning och rekommendationer.....	5
<i>Staphylococcus aureus</i> hos hästar	5
Häst och människa	6
MRSA i klinikmiljö.....	7
MRSA/MRSP i Sverige.....	7
Situation på aktuell klinik.....	9
Sekvensering/fingerprinting av <i>S. aureus</i>	9
Material och metoder.....	10
Provtagning och provhantering	10
Analyser	10
Informationsinhämtning	11
Resultat.....	12
Prover	12
Diskussion	17
Konklusion	20
Referenser.....	21
Artiklar	21
Böcker	23
Lagar, förordningar och föreskrifter.....	23
Rapporter.....	24

ORDLISTA

- CA-MRSA: samhällsförvärd MRSA, från engelska Community associated MRSA
- HA-MRSA: nosokomial MRSA, från engelska Health care associated MRSA
- LA-MRSA: nötkreatursassocierad MRSA, från engelska Livestock associated MRSA
- MALDI-TOF: Matrix assisted laser desorption-ionization-time-of-flight,
- MRSA: Meticillinresistent *Staphylococcus aureus*
- MRSP: Meticillinresistent *Staphylococcus pseudintermedius*
- MSSA: Meticillinkänslig *Staphylococcus aureus*, fr. engelskans meticillin susceptible
- MSSP: Meticillinkänslig *Staphylococcus pseudintermedius*, fr. engelskans meticillin susceptible
- nuc*: gen som bärs av alla *Staphylococcus aureus*
- PFGE: Pulsed Field Gel Electrophoresis,
- PVL: Panton-Valentin leukocidin, gen hos vissa *S. aureus* som kodar för ett toxin associerat till allvarliga infektioner i hud och mjukdelar
- q*-PCR: quadruple-PCR, analyserar prover med avseende på fyra gener samtidigt, i denna studie *mecA*, *mecC/mecA*_{LGA251}, *nuc* och PVL
- S.a.*: *Staphylococcus aureus*
- S. aureus*: *Staphylococcus aureus*
- spp: species; betecknar alla arter under ett genus
- S.p.*: *Staphylococcus pseudintermedius*
- S. pseudintermedius*: *Staphylococcus pseudintermedius*

INLEDNING

Resistens mot antibiotika är ett växande problem, framförallt när det gäller infektioner hos människor. Studier har visat att de finns ett samband mellan mängd och typ av förskrivna antibiotika och förekomst av resistens hos bakterier i den lokala miljön, så kallad nosokomial infektion eller HA-MRSA, från engelskan health care associated MRSA (Dancer *et al.*, 2005). Med den moderna djursjukvård som bedrivs idag förekommer samma problematik även på djursidan. Till det kommer den resistens som uppstår som en följd av användningen av antibiotika inom animalieproduktionen i vissa delar av världen, nötkreatursburen MRSA eller "livestock associated MRSA" (LA-MRSA). Tidigare studier har visat att människor kan infekteras av MRSA från både dessa källor men också från det övriga samhället; samhällsburen MRSA eller "community associated MRSA" (CA-MRSA), varför kartläggning och strategier för hantering av infektionsämnet i det vardagliga arbetet inom djurens hälso- och sjukvård är av största vikt för att stoppa spridningsvägar (Pletinckx *et al.*, 2013; Deiters *et al.*, 2015). Tidigare studier har visat ett samband mellan förekomst av MRSA hos hästar och bärarskap hos människor som tar hand om hästarna (van Duijkeren *et al.*, 2010; Grönlund Andersson *et al.*, 2014; van der Mee-Marquet *et al.*, 2014; Bortolami *et al.*, 2017; Rojas *et al.*, 2017). Nosokomial infektion av MRSA på häst i Sverige konstaterades första gången 2008 (Bergström *et al.*, 2012a).

Syftet med den här studien är att undersöka förekomsten av MRSA på ett hästsjukhus i Sverige och om så var fallet på vilken typ av ytor bakterien kunde påvisas. Den undersökta kliniken drabbades av ett MRSA-utbrott under månaderna som föregick studiens genomförande, men miljöprovtagning med negativt resultat genomfördes ca 3 veckor innan denna studies provtagning inleddes (Perttula, personligt medd., 2017).

LITTERATURÖVERSIKT

***Staphylococcus* spp.**

Staphylococcus spp. är kommensaler och tillhör normalfloran på hud och slemhinnor hos både djur och människor, vissa av dem är opportunisterna och kan orsaka pyogena infektioner (Quinn *et al.*, 2011). Bakterier tillhörande detta släkte koloniserar främst de övre luftvägarna, nedre urinvägarna och fuktigare delar av huden som axillarrummet och perineum (Quinn *et al.*, 2011). Särskilt nares/näshålan är mycket vanlig bärarplats och ca 20 % av alla människor beräknas vara bärare av *Staphylococcus aureus* i just näshålan (Quinn *et al.*, 2011). Inom släktet hör *S. aureus* och *S. pseudintermedius* till de vanligaste avseende hud- och sårinfektioner hos människor respektive husdjur (Quinn *et al.*, 2011). De är grampositiva kocker och kan överleva relativt länge utanför sina värdjur (Wagenvoort *et al.*, 2000; Quinn *et al.*, 2011).

Staphylococcus aureus

S. aureus kan orsaka hud- och sårinfektioner hos både djur och människor (Quinn *et al.*, 2011). Bakterien kan dessutom orsaka mastit hos flera djurslag (nöt, häst, får, m.fl.), endometrit, botryomykos hos häst. Vissa stammar kan producera värmestabila enterotoxiner vilka kan orsaka matförgiftning hos människa (Quinn *et al.*, 2011; Vincze *et al.*, 2014). Andra virulensfaktorer hos *S. aureus* är produktion av koagulas, lipas, esteras (nedbrytande enzymer som orsakar vävnadsskada), alpha-toxin (kan t.ex. orsaka letala gangränösa mastiter), exfolierande toxiner (bl.a. proteaser vilka ger hudlesioner framförallt hos människa och hund) samt TSST – toxic shock syndrom toxins som inducerar excessiv lymfokinproduktion vilket kan ge vävnadsskada och även har superantigenegenskaper (Quinn *et al.*, 2011).

En mycket viktig egenskap hos *S. aureus* är att den har en zoonotisk potential, dvs. kan sprida sig mellan människor och djur, även om olika stammar har olika förmåga att kolonisera olika arter (van Duijkeren *et al.*, 2010; Vincze *et al.*, 2014; Bortolami *et al.*, 2017).

Staphylococcus pseudintermedius

Tidigare ansågs *Staphylococcus intermedius* vara den viktigaste patogena stafylokocken hos hund och katt, men senare studier har visat att det är *Staphylococcus pseudintermedius* som likt *S. aureus* kan orsaka pyodermi, sårinfektioner, endometrit, m.fl. suppurativa tillstånd (Devries *et al.*, 2009, Quinn *et al.*, 2011). *S. pseudintermedius* återfinns sällan i isolat från häst (Quinn *et al.*, 2011).

Resistens och klassificering

MRSA påträffades för första gången 1961 i Storbritannien och har sedan dess spritt sig över stora delar av världen (Barber, 1961; Jevons, 1961). Första kända fallen på djur var mastit hos mjölkkor 1972 (Devriese *et al.*, 1972).

Studier har visat tydliga samband mellan hög antibiotikaanvändning på sjukhusavdelningar och förekomst av antibiotikaresistens hos bakterier i närmiljön. Vid jämförelser av avdelningar med stor skillnad i förskrivning av antibiotika, visades att en större andel av bakterierna var resistenta mot antibiotika på avdelningen med högst antibiotikaförskrivning, liksom att dessa var resistenta mot fler typer av antibiotika. Avdelningen med högst antibiotikaförskrivning tillika resistensförekomst, var dock inte den som visuellt gav intryck av att vara smutsig. Det visuella intrycket av en klinik har således inget samband med förekomsten av resistenta bakterier i miljön (Dancer *et al.*, 2006).

En anledning till att multiresistenta bakterier lyckas överleva i sjukhusmiljö är deras förmåga att bilda och överleva i biofilmer. Att biofilm kan kvarstå trots adekvat rengöring har visats i en studie där olika delar av ett sjukhus provtogs efter rengöring med neutralt rengöringsmedel och efterföljande desinfektion med klorin. Både biofilm och förekomst av resistenta bakterier kunde påvisas trots rengöring; bakterier växte ut på hästblodagar från 66 % av proverna (4/6). En anledning till detta skulle kunna vara att fukt kondenserar på ytor på sjukhusavdelningar, vilket ger tillräckligt mycket fukt för att bakterier på ytan ska kunna producera biofilm. Väl bildad är biofilmen mycket svår att tvätta bort. Forskarna lyckades dock isolera och odla fram MRSA även från en provtagningsplats där ingen biofilm kunde påvisas (Vickery *et al.*, 2012).

MRSA grupperas ofta med avseende på ursprung; nosokomial (ofta förkortat HA-MRSA efter Health care Associated MRSA), samhällsförvärd (CA-MRSA, Community Associated) och nötkreatursassocierad MRSA (LA-MRSA, Livestock Associated). Vid ett utbrott krävs smittspårning för att kartlägga smittvägar och stoppa ytterligare spridning. En viktig del i detta arbete är att avgöra ursprunget till ett utbrott varför metoder för att kunna särskilja de tidigare nämnda grupperna är av stor vikt (Zhang *et al.*, 2015). För att göra den åtskillnad krävs dock att hänsyn tas till flera variabler, bland annat de drabbades tidigare kontakt med sjukvård (Perovic *et al.*, 2017). Tidigare har olika stammar av MRSA (efter ytterligare analyser, se nästa stycke) hänskjutits i sin helhet till de olika grupperna nämnda ovan, men över tid har den särskiljningen blivit mindre tydlig och vissa stammar har t.ex. förekommit vid både nosokomial och samhällsförvärd MRSA-infektion (Perovic *et al.*, 2017; Boyle *et al.*, 2017).

Meticillinresistenta *S. aureus* förekommer i flera varianter och för att kunna smittspåra är det av stor vikt att ha tillgång till ett typningssystem som kan identifiera olika varianter eller kloner. Det finns flera sätt att typa eller klassificera MRSA. Vilket system som används i praktiken skiljer sig lite beroende på plats i världen, men det sker också en förändring över tid i och med utveckling av nya tekniker. Resultat av typning kan klassificeras antingen som clonal complexes (CC) eller sequence type (ST), som identifieras med hjälp av multi locus sequence typing (MLST). *Spa*-typer som beskriver polymorfism i *spa*-genen, är mycket använt och har till stor del ersatt gelelektrofores (pulsed field gel electroforesis, PFGE) som tidigare sågs som ”gold standard” vilket delade in MRSA i *SmaI*-klasser (Cuny and Witte, 2017). Flera varianter av den resistensbärande genen *mec* förekommer och vilken som är närvarande i varje fall kan bestämmas med hjälp av PCR. I Sverige har *mecA* och *mecC/mecA_{ALGA251}* hittills påträffats vid sjukdomsutbrott (Swedres-Svarm, 2016). Resultatet av typning brukar presenteras t.ex. som CC398, t011. MRSA av typen CC398, som är vanligt förekommande på häst, är från början associerad till boskap (Graveland *et al.*, 2011; Cuny & Witte, 2017), men studier har visat att det numera finns indikationer på att en viss hästklinik-associerad typ har utvecklats; CC398, t011, SCCmecIV som också bär på en viss typ av gentamicinresistens (Cuny & Witte, 2017). Hos svenska hästar är det just denna typ som är vanligast förekommande (Swedres-Svarm, 2016). För att avgöra om en CC398 tillhör denna ”clade” krävs dock analys av SNP, single nucleotide polymorfism. MRSA av typen CC398 förekommer främst hos människor som jobbar med produktionsdjur eller på hästkliniker, eller på annat sätt har nära kontakt med djur. Varianten har dock isolerats även från patienter utan kontakt med dessa typer av djur, vilket tyder på att det även förekommer överföring av MRSA av denna typ mellan människor.

Första problemet med MRSA (stam CC398) upptäcktes i Nederländerna 2004, hos asymtomatiska grisar och deras grisskötare, som en grisadapterad stam av MRSA med förmåga att kolonisera människor (Voss *et al.*, 2005; van der Mee-Marquet *et al.*, 2014). Kliniska symtom

vid *S. aureus*-infektion är dock ovanligt på grisar, (Quinn *et al.*, 2011). Hur denna stam sedan överfördes till hästar är inte helt klarlagt, men det har föreslagits att hästar som hålls på samma gårdar som grisar och delar miljö och omhändertagande människor, liksom t.ex. veterinärer kan vara ett möjligt ursprung (van Duijkeren *et al.*, 2010). Detta påstående stöds av studier som visar att MRSA av samma stam, ST398, med samma *spa*-, SCCmec- och antibiotikaresistensprofil i flera fall förekom bland både grisar, människor och sällskapsdjur (inklusive hästar) på samma gårdar (Pletinckx *et al.*, 2013). En fransk studie av CC/ST398 och dess olika varianter talar för att stammen har utvecklats från att vara tydligt grisadapterad till att bli betydligt mer divers och ha potential att utveckla förmåga till pandemisk spridning hos människor (van der Mee-Marquet *et al.*, 2014).

Meticillinresistent *S. pseudintermedius* (MRSP) är ännu inte så vanligt, men ökar i förekomst (Quinn *et al.*, 2011). Det ses som ett växande problem inom djurens hälso- och sjukvård, särskilt som stammarna ofta är resistent mot ett stort antal antibiotika inklusive betalaktamer, vilket gör dem svårbehandlade (Quinn *et al.*, 2011). MRSP har isolerats från luftsäckarna hos hästar som deltog i screening för infektion med *Streptococcus equi* (Boyle *et al.*, 2017).

Lagstiftning och rekommendationer

Konstaterade fall av MRSA och MRSP hos djur skall anmälas till Länsstyrelsen, enligt Jordbruksverkets förordning SJVFS 2013:23. För produktionsdjur, undantaget hästdjur, gäller denna anmälningsplikt dock enbart indexfall (SJVFS 2013:23). Hantering av djur med misstänkt eller konstaterad infektion med MRSA/MRSP regleras även i Jordbruksverkets föreskrifter om hygienregler som bland annat anger att djurhållare med djur där infektion misstänks är skyldiga att låta provta djuret och att vidta åtgärder för att förhindra spridning (SJVFS 2013:14).

Folkhälsomyndigheten har publicerat rekommendationer för hur MRSA ska hanteras hos hund, katt och häst. Där finns även instruktioner för personer som är bärare av MRSA och som jobbar med djur mottagliga för MRSA (Folkhälsomyndigheten, 2011). Infektion med MRSA hos människa betraktas som en allmänfarlig sjukdom och är anmälningspliktig enligt Smittskyddslagen (SFS 2004:168). MRSP är inte anmälningspliktig vid infektion hos människa (Swedres-Svarm, 2016).

***Staphylococcus aureus* hos hästar**

Prevalensen för MRSA hos hästar varierar mellan länder och undersökningar, men tenderar att öka (Bergström *et al.*, 2012a; Van Balen *et al.*, 2014; Bortolami *et al.*, 2017). I en studie från Nederländerna, screenades alla hästar som skrevs in på ett veterinärt undervisningssjukhus för MRSA (som också typades), av dessa visade sig 9,3 % vara bärare (van Duijkeren *et al.*, 2010). På samma hästsjukhus påvisades MRSA hos 42 % av de inlagda patienterna, under en testperiod av fem veckor. På ett annat hästsjukhus där det bedrevs undervisning påvisades MRSA från 132 av 240 (55 %) prover (Van den Eede *et al.*, 2013a), medan Vincze *et al.* (2014) rapporterade MRSA i 9,4 % av 604 insända svabbar från sårinfektioner hos tyska hästar. En longitudinell studie över 5 år på ett engelskt hästsjukhus påvisade MRSA i 6,3 % av de infekterade operationssåren (SSI, från engelskan surgical site infections) (Bortolami *et al.*, 2017).

Som en följd av de första MRSA-utbrotten i Sverige undersöktes hur lång tid hästarna bar på MRSA. Undersökning av näsborrar/nares, just i gränsen mellan hud och mukosa, var den

provtagningsplats med störst sannolikhet att påvisa MRSA (Bergström *et al.*, 2013; Van den Eede *et al.*, 2013a). De nio undersökta hästarna från utbrottet provtogs minst sju gånger, de första sex testtillfällena ungefär en gång/mån efter det initiala testtillfället och det sjunde tillfället 6-12 månader efter det sjätte. Patienten ansågs som fri från MRSA efter två på varandra följande negativa provresultat. MRSA påvisades i 4 % av proverna (13/323) och bärartiden varierade mellan 55 och 711 dagar, med ett medeltal på 143 dagar. Alla hästarna blev slutligen negativa för MRSA även om det i vissa fall tog lång tid (Bergström *et al.*, 2013).

Häst och människa

Vid typning av MRSA från 272 MRSA-positiva hästar i Tyskland och 67 personer i personalen på de hästsjukhus och -kliniker som vårdat dem, dominerade CC398 (82,7 %), vilket stämmer väl överens med andra studier (Van den Eede *et al.*, 2013a; Vincze *et al.*, 2014; Cuny *et al.*, 2016; Bortolami *et al.*, 2017). Majoriteten av dessa isolat (66 %) hörde till en hästklinikspecifik variant av CC398, där 79 % var resistenta mot florokinoloner. Resistens mot gentamicin kunde ses i 85 % av fallen och var starkt kopplat till den specifika hästvarianten, medan resistens mot tetracyklin fanns i 97,5 % av alla isolat (Cuny *et al.*, 2016). Alla isolat var känsliga för mupirocin (Cuny *et al.*, 2016). Även om författarna konstaterar att MRSA är ett nosokomiellt problem och att den bara i liten grad sprider sig från klinikmiljön till det omgivande samhället, så är det av stor vikt att skyndsamt etablera och implementera rutiner för att förhindra och begränsa smittspridning (Cuny *et al.*, 2016). Kontakten mellan människa och häst och risken för överföring av infektioner i den kontakten, behöver övervakas, framförallt i klinikmiljö (Cuny *et al.*, 2016). Risken för att infekteras/bli bärare av MRSA häst-typen CC398, är högre för personer som delar hushåll med individer som är testpositiva för MRSA (CC398), men att infektionen åtminstone delvis är transient (Walter *et al.*, 2017). De som delar hushåll med en MRSA-positiv veterinär, bär i hög utsträckning på samma variant av stafylokok (Walter *et al.*, 2017).

Det finns ett samband mellan bärarskap av MRSA hos hästar och hos de människor som sköter dem. Vid undersökning av ekipage vid ett antal större hästevenemang fanns att prevalensen av MRSA var låg, 1,2 % och 2,4 % hos häst respektive människa, men där den fanns hos både människa och häst var det samma variant som hittades (LA-MRSA) (Van den Eede *et al.*, 2013b). Inget tydligt samband till hästevenemang eller -transporter kunde påvisas, däremot regelbunden kontakt med hästklinik (Van den Eede *et al.*, 2013b). Även andra studier visar på samband mellan MRSA hos hästar och påvisande av bärarskap hos de människor som vårdar dem (O'Mahony *et al.*, 2005; van Duijkeren *et al.*, 2010).

Vid PFGE-analys av MRSA från 25 djur (14 hundar, åtta hästar, en katt, en kanin och en säl) och 10 individer ur personalen som vårdat dem, visades att isolaten från "icke-ekvina" patienter inte gick att skilja från varandra eller de isolat från människor som tagit hand om dessa patienter (O'Mahony *et al.*, 2005). Stora likheter fanns mellan denna MRSA-typ och typer funna på humana sjukhus i landet (O'Mahony *et al.*, 2005). De ekvina patienterna kom ursprungligen från sex olika mindre kliniker innan de remitteras till en och samma hästklinik för provtagning och behandling. Isolaten från dessa patienter och personal var mycket lika varandra sinsemellan, men skiljde sig tydligt från de andra isolaten. Stammen som isolerades från hästar och hästpersonal har tidigare inte rapporterats från humansidan i det området (O'Mahony *et al.*, 2005).

MRSA på hästkliniker är antingen HA-MRSA eller LA-MRSA, men hästkliniker förefaller inte vara en primär källa för MRSA-infektion hos människa (Cuny and Witte, 2017). Intranasal kolonisation av personalen vid hästkliniker i fyra europeiska länder varierade mellan 9,4 och 22,2 % (Cuny and Witte, 2017). Det finns dock rapporter som tyder på att överföring av MRSA har förekommit mellan veterinärer och familjemedlemmar utan djurkontakt (Cuny and Witte, 2017). Det finns än så länge få studier över hur länge hästarna är bärare av MRSA efter att de skrivits ut från kliniken och i vilken utsträckning infektion/bärarskap förekommer hos både häst och dess skötare. MRSA har troligen kommit från human sjukhusmiljö, eller från andra djur, innan den börjat cirkulera på och mellan hästkliniker. CC398, en stam som tidigare ansetts tillhöra LA-MRSA, men som nu är mycket vanligt förekommande vid MRSA-infektion hos häst. Övervakning och kontrollåtgärder är av största vikt för att undvika spridda smittor av kloner med epidemisk potential (Cuny and Witte, 2017).

MRSA i klinikmiljö

Vid undersökning av 66 provtyper på en hästklinik, både humana kontaktytor och patientkontaktytor, varje månad under ett år kunde MRSA påvisas från 9,7 % av de humana kontaktytorna och 7,1 % av djurkontaktytorna (Van Balen *et al.*, 2014). De vanligaste kontaminerade ytorna var datorer, foder- och vattenhinkar samt mattor/madrasser för operationsbord. Tre konstateranden kunde också göras; det skedde en kontinuerlig introduktion och re-introduktion av resistenta stammar, resistenta kloner cirkulerade på sjukhuset och att stammar överlevde i miljön över tid, då samma unika MRA-klon kunde isoleras från en och samma provtagningsyta vid två på varandra följande provtagningsstillfällen. Antalet positiva fall varierade över året med högst antal fall under perioden oktober till december (Van Balen *et al.*, 2014).

Vid miljöprovtagning på ett undervisande hästsjukhus i Nederländerna påvisades MRSA i 53 % (19/35) av proverna, bland annat från stall, isoleringsavdelningar, undersökningsrum, hovslagarutrymmen/smedja, studenternas rum och matsal (van Duijkeren *et al.*, 2010). I England identifierades MRSA i 11,5 % av miljöproverna och 7,4 % av handprovtagningarna som gjordes i en studie över fem år (Bortolami *et al.*, 2017). I miljön på det största undervisande djursjukhuset i Costa Rica kunde MRSA påvisas i 26,5 % av proven (Rojas *et al.*, 2017). Av de påvisade MRSA-proven var 21,4 % positiva för PVL-gener som kodar för egenskaper som medför hög patogenicitet (Rojas *et al.*, 2017). Utbredd förekomst av MRSA i miljön ses också som en viktig anledning till både zoonotisk och nosokomial smittspridning (van Duijkeren *et al.*, 2010). Samband har även setts mellan bärarskap av MRSA i nasala svabbprov hos hästar på en gård och förekomst av MRSA i svabbprov från deras omgivning (Peterson *et al.*, 2012). MRSA har beskrivits överleva på icke-levande ytor i över sex månader, varför de inte kan förväntas försvinna spontant från miljön utan måste tvättas bort (Wagenvoort *et al.*, 2000).

Det har konstaterats att det viktigaste i arbetet med att begränsa infektioners spridning är att konstant tänka på handhygienen, vilket är särskilt viktigt när det kommer till MRSA då denna bakterie främst hittas på händer och handkontaktytor (Dancer *et al.*, 2006).

MRSA/MRSP i Sverige

MRSA påvisades hos häst i Sverige första gången 2007 i en screening, det första kliniska fallen var året efter, 2008 (Bergström *et al.*, 2012a). Det första utbrottet skedde på en klinik där tre hästar konstaterades ha MRSA postoperativt i operationssåret. Hästarna hade inte haft någon direkt kontakt med varandra, men hade antingen opererats i samma sal eller med samma instrument (rengjorda/autoklaverade emellan). Ytterligare 3 hästar som opererades under en

femdagarsperiod en månad senare, konstaterades senare vara infekterade med MRSA. Inget primärfall kunde dock konstateras pga. att ingen av hästarna hade testats för MRSA vid ankomst till kliniken. Det går inte att utesluta att ursprunget kan ha varit människa med tanke på *S. aureus*' zoonotiska potential (Van Balen *et al.*, 2014). Analyser visade att MRSA-isolaten i detta utbrott var av typen ST398, t011, som tidigare betraktats som LA-MRSA. I Sverige hade dock inget fall av denna typ konstaterats på nötkreatur än, varför det djurslaget inte ansågs vara en trolig källa till utbrottet. Ingen av de tre första infekterade hästar var födda i Sverige och ingen hade varit utomlands, dock kunde inte fullständig smittspårning på alla kontakthästar genomföras. Typning gjordes av MRSA från totalt 12 hästar som diagnosticerats med MRSA i Sverige 2007–2010. Dessa härrör från ovan nämnda utbrott och anonyma screening, ytterligare ett utbrott på samma hästklirik, samt ett isolat påvisat vid kontaktspårning och ytterligare två från en annan klinik ("klinik två"). Av dessa prover visade sig nio vara "oskiljbara" från varandra, två vara nära besläktade med denna (hittade vid de senare konstaterade fallen, förklarade som genetisk drift i en cirkulerande population) och ett fall av en annan *spa*-typ (t064). Det sistnämnda fallet konstaterades på klinik två och påvisades sex månader efter de andra fallen där. Denna typ av MRSA hade tidigare setts på hästar i Europa, men inte i Sverige. De två fallen från denna klinik bedömdes därför inte utgöra ett sammanhållet utbrott, men gav upphov till att en revision av hygienarbetet på den drabbade kliniken. Efter de två utbrotten under 2008 genomfördes ett större saneringsarbete följt av en uppdatering av hygienarbetet på kliniken (Bergström *et al.*, 2012b).

I Sverige rapporterades 4402 nya fall av MRSA hos människa under 2016, vilket är en ökning från året innan, men ökningstakten har minskat (Swedres-Svarm, 2016). Det skedde en stor ökning under 2015, som till stor del har förklarats med stor inflyttning av positiva bärare (Swedres-Svarm, 2016). Majoriteten av fallen (57 %) var infekterade utomlands och i den gruppen var nosokomiala infektioner vanligare än för de inhemska fallen, 16 % jämfört med 4,6 %. Följaktligen var CA-MRSA vanligare hos de infekterade i Sverige än de som drabbats utomlands, 76 % respektive 58 %, men generellt var det den vanligaste smittvägen för båda grupperna (Swedres-Svarm, 2016). Den vanligaste *spa*-typen hos människor i Sverige 2016, var t223 följt av t127 och t304. För de importerade fallen var t304 och t223 vanligast förekommande. Vanligaste åldersgruppen var spädbarn följt av personer 80 år eller äldre. Tre inhemska utbrott (tre eller fler fall) rapporterades, alla från äldreboenden, och dessa fall utgjorde 1,5 % av det totala antalet fall under året (167 stycken) (Swedres-Svarm, 2016). MRSA av stammen CC389 boskap (LA-MRSA) har i 67 fall av rapporterats hos människor i Sverige under åren 2006–2016, varav åtta under 2016 (Swedres-Svarm, 2016). Prevalensen för MRSA hos både människor och djur är fortfarande låg i Sverige, med sporadiska fall från sällskapsdjur (Swedres-Svarm, 2016). Hos hund och katt dominerar samma typer av resistens som hos människa, som i de fallen sannolikt är källan, medan det hos hästar är det vanligare med varianten CC398 (Swedres-Svarm, 2016). Under 2016 skedde ingen aktiv övervakning av MRSA i Sverige bland hundar, katter och hästar. Screening har genomförts tidigare, bland annat på häst 2007 och 2010, med enbart ett positivt fall 2007. 2016 rapporterades MRSA enbart från två hundar och två katter, inte från några hästar. Det fanns dessutom ett utbrott av MRSA med *mecC* hos getter i djurparker, samt ett kliniskt fall och flera infekterade vilda igelkottar (Swedres-Svarm, 2016). Övervakning för förekomst av MRSA i mjölkprover från kor sker i Sverige sedan 2010. Sammanlagt har åtta positiva prover identifierats i Sverige, fördelat på både *mecA* och *mecC*, det senaste 2015 (Swedres-Svarm, 2016).

Första MRSA-infektionen på hund diagnosticerades 2006, varefter ytterligare sju hundar konstaterades vara infekterade inom mindre än ett år (Grönlund Andersson *et al.*, 2014). LA-MRSA av typen CC398 har inte påvisats i svenska avels-grisbesättningar, vid någon av de provtagningar som gjorts (2011 och 2014) (Unnerstad *et al.*, 2017). Att det inte finns någon MRSA i toppen av avelspyramiden är positivt, men situationen påverkas av att hygienrutiner och regelverk följs och kvarstår (Unnerstad *et al.*, 2017).

Antalet rapporterade fall av MRSP har varit på en relativt jämn nivå under 2014, 2015 och 2016; 39, 60 och 55. Även hos MRSP förekommer olika genotyper, där antalet förekommande typer i Sverige ser ut att öka (Swedres-Svarm, 2016).

Situation på aktuell klinik

På den aktuella kliniken har MRSA förekommit tidigare, senast 2017. Under sommaren 2017 upptäcktes MRSA hos en patient inskriven på den undersökta kliniken. Patienten som drabbades var ett föl (varmblodig travare), från vilket MRSA kunde isoleras ur prov från en böld i samband med tromboflebit (Perttula, personligt meddelade, 2017).

MRSA påvisades även i en sårinfektion hos en annan patient på kliniken. Personer i personalen med svårläkta sår uppmanades att lämna prov hos Länshälsan. Hur många som gjorde det är inte känt, men två individer i personalen konstaterades infekterats med MRSA. Det är inte känt hur länge fölet var bärare av MRSA. Hos den sekundärt infekterade patienten var såret helt efter 26 veckor (Perttula, personligt meddelade, 2017).

Vid detta utbrott konstaterades MRSA av *spa*-typ t1257. Vid tidigare MRSA-utbrott på kliniken (2014) hittades *spa*-typ t011 (Perttula, personligt meddelande, 2017).

Efter konstaterande av MRSA 2017 togs miljöprover på kliniken; dels samlingsprover (poolade), vanligtvis ett stall eller ett undersökningsrum, medan viss utrustning provtogs separat. Ytor som provtogs var bland annat handtag på dörrar och boxdörrar, tangentbord, handtag till skåp och lådor, narkosapparat, artroskopiutrustning och tvångsspiltor. Miljöprovtagning genomfördes i flera omgångar och ca tre veckor innan provtagning för min studie påbörjades kunde inte MRSA påvisas i något av miljöproven (15/8 jmf m 10/9) (Perttula, personligt meddelade, 2017).

Sedan utbrottet sommaren 2017 har rutiner införts som innebär att tagställen, såsom dörrhandtag, lampknappar och vattenkranar, spritas av minst två gånger/dag, varefter genomförd avspritning signeras på en lista. Vissa rum, som veterinärernas kontor och klinikens personallunchrum, eftersträvas av spritas tre ggr/dag (Perttula, personligt meddelande, 2017).

Denna studie var planerad redan innan utbrottet konstaterades. Studien har inget samband med utbrottet sommaren 2017, men kan ge en god indikation på om de hygienåtgärder som sattes in var tillräckliga.

Sekvensering/fingerprinting av *S. aureus*

För att kunna smittspåra och stoppa vidare utbrott, är det viktigt med snabb karakterisering och typning av MRSA. Flera olika analysmetoder används för typning av MRSA; *S. aureus* protein A (*spa*)-typning, multilocus sequence typing (MLST) och pulsed field gel electrophoresis (PFGE). PFGE var länge dominerande och ansågs som gold standard, men PFGE är relativt

dyrt, långsamt och innebär vissa svårigheter att utbyta typning mellan laboratorier på grund av skillnad i analysförfarande, varför andra enklare metoder används idag (Wolters *et al.*, 2011).

MATERIAL OCH METODER

Provtagning och provhantering

Provtagningsplatser valdes ut för att representera så stor del av kliniken som möjligt. Sammanlagt togs 65 prover, varav de 24 första var poolade prover (taget från flera ytor i ett rum/utrymme) tagna vid två tillfällen och fördelade över tänkbara kontaktytor på kliniken. Resterande prover var separerade provtagningar från de platser där *S. aureus* identifierats tidigare. Provtagningen genomfördes i sex omgångar och gjordes av praktiska skäl oftast under söndag förmiddag eller måndag morgon, för att hinna odla och analysera proverna innan nästa helg.

Prover togs med sterila 10*10 cm kompresser (Mediplast) fuktade med 20 ml spädningslösning innehållande pepton 1g/L och NaCl 8,5 g/L (SPV). Till prov nummer 33–47, enbart 10 ml SPV på provtagningskompresserna för att undvika stora mängder lösning i de apparater som provtogs, det upplevdes dock inte ha någon påverkan på kompressens fuktighet, utan minskade bara mängden överskottsvätska. Kompressen placerades i en ren ny stomacherpåse som vid provtagning vrängdes över handen så att kompressen enbart kom i kontakt med den yta som skulle provtas. Vid provtagning gnuggades kompressen så hårt underlaget tillät, mot en yta av minst 10*10 cm. Prover vars påsar tydligt skadats under provtagning hälldes över i nya påsar inför inkubering, medan påsar som bara läckte diffust, lades i en ytterligare påse för att skydda omgivningen från kontamination.

Efter provtagning tillsattes 100 ml Mueller Hinton-buljong med 6 % NaCl i provtagningspåsarna med kompresserna vilka inkuberades i 24 h vid 37 °C. Efter inkubering överfördes 1 ml av provbuljongen ut till 9 ml av en buljong bestående av Trypsin Soy Broth (TSB) 4 % NaCl, och tillsats av cefoxitin och aztreonam, denna buljong anrikades vid 37 °C i 24 h. Efter anrikning överfördes 10 µL vardera till nötblod- (5 %, SVA), MAST- (SVA) respektive chromogen-agarplattor (Oxoid, PO5310 Brilliance MRSA 2 agar) vilka inkuberades i 24 + 24 h i 37 °C innan avläsning. Samtliga plattor avlästes efter 24 och 48 h inkubering.

Misstänkta kolonier på nötblodplatta var de med en klar hemolyszon, på MAST-plattor gula eller rosa kolonier med gult färgomslag i mediet och på chromogen-agarplattor stora blå kolonier. Samtliga misstänkta kolonier renodlades på nötblodagar för konfirmering vilka inkuberades i 24 h i 37°C. Vid överväxt av svärmande bakterier som *Proteus* ssp. Inkuberades plattorna i 12-18h med en kompress med sprit i locket för att hämma konkurrerande blandflora, alternativt på CLED-agarplattor vilka inkuberades vid 37°C i 24 h.

Analys

Misstänkta kolonier artbestämdes med hjälp av MALDI-TOF. Konfirmerade stammar av *S. aureus* och *S. pseudintermedius* frystes in i BHI (brain-heart-infusion) med glycerol, i väntan på PCR. Flera isolat från samma prov sparades om de var positiva för *S. aureus*, men bara ett isolat per prov analyserades med PCR (med undantag för prov 38 där två isolat kördes). När flera isolat fanns från en provplats och ingen särskild misstanke om MRSA förelåg (indikerat vid analys med MALDI-TOF), valdes det isolat som givits nummer 1.

För att göra bakteriernas DNA tillgängligt för PCR koklyserades proverna innan analys enligt en modifierad version av Capurro *et al.* (2009), metoden används bland annat vid Statens Veterinärmedicinska Anstalt (SVA). Bakterierna odlades ut på nötblodagarplattor i två omgångar för att säkerställa att isolatet var i renkultur. En μL bakterier löstes sedan upp i lysostafinlösning och inkuberades i 37 °C i 10 minuter. Efter detta tillsattes 50 μL proteinas K (20 mg/ml) och 150 μL 10 mM Tris-HCl pH 8,5 varpå proverna vortexades och inkuberades i 10 min i 54 °C. Proverna inkuberades sedan i 96 °C i 10 minuter varefter de kyldes på is. Avslutningsvis centrifugerades proverna (13 000 rpm i 5 min) innan supernatanten frystes in (-20°C).

För bestämning och identifiering av resistensgener användes en real-time quadruplex-PCR med primers för *nuc*, *PVL*, *mecA* samt *mecA*_{ALGA251}, i en något modifierad version av den som finns beskriven av Pichon *et al.* (2012). Inför analys blandades 0,85 μL av primer-lösning för de fyra generna samt 0,3 μL prover blandades med 10 μL mastermix och 2 μL provlösning i en provplatta som sedan täcktes med självhäftande plastfilm. Realtids-PCR kördes sedan: först två minuter i 50°C, 10 min i 95 °C, 40 cykler om 94 °C i 15 sekunder och 58 °C i 40 sekunder. Som referens/kontroller användes två *S. aureus*-stammar CCUG60578 och CCUG63582 (Culture Collection University och Gothenburg), vilka ursprungligen är två isolat från kliniska fall från människa, vilka tillsammans innehåller alla fyra resistensgener.

Initialt erhöles inga resultat vid analys med hjälp av PCR. Proverna analyserades ytterligare en gång spädda med milli-pore-vatten (1:10) varefter resultat erhöles. Alla prover utom ett (nr 47) var positiva för *nuc*-genen, som bärs av alla *S. aureus* (Pichon *et al.*, 2012). Bakterier motsvarande de positiva proven odlades på nytt och analyserades på MALDI-TOF och därefter gjordes en PCR-undersökning efter beredning genom koklysering.

Proverna med positivt resultat för MRSA på PCR, analyserades ytterligare en gång på MALDI-TOF för att analysera eventuell likhet i spektrum, vilket skulle indikera släktskap mellan de analyserade stammarna (Wolters *et al.*, 2011).

Informationsinhämtning

Vid litteratursökning användes de vetenskapliga databaserna PubMed och Web of Science, med sökorden: MRSA, horse, environment, hospital, clinic, MALDI-TOF och t1257. Referenslistor i lästa artiklar samt kurslitteratur från veterinärprogrammet vid Sveriges lantbruksuniversitet (SLU) användes också.

För statistiska analyser av data användes programmet MiniTab, där Chi2-test av data gjordes för att testa om samband fanns mellan typ av yta (humankontakt, djurkontaktyta eller blandning) och förekomst av MRSA/*S. aureus*.

RESULTAT

Av 65 insamlade prover kunde *S. aureus* påvisas från 24 av dem, varav tre visade sig vara positiva för *mecA*. Av dessa tre prover var ett från telefonerna på veterinärkontoret, ett poolat prov från intensivvårdsstallet (IVA-stall) och ett från receptionen. Proverna var fördelade över 29 specifikt humana kontaktytor, 30 djurkontaktytor och sex ytor av blandad kategori. De 23 första proverna var poolade, nio av dessa innehöll *S. aureus* varav ett var MRSA-positivt. *S. pseudintermedius* påvisades inte i något prov.

En av de ytor där MRSA påvisades var ett poolat prov med både djur- och humankontakt. Ytan provtogs en vecka senare med separerade prover för de olika ytorna, dock utan att någon MRSA kunde påvisas. De två återstående positiva proverna var tagna från strikt humana kontaktytor; den publika delen av kundreceptionen och personaltelefoner på laddning på veterinärkontoret.

De tre MRSA-isolaten som påvisades analyserades ytterligare en gång på MALDI-TOF för att analysera eventuella likheter i spektrum. Analysen visade inte på några signifikanta skillnader mellan de tre isolaten. De avvek inte heller ifrån mönstret som uppvisades av kontrollstammarna CCUG60578 och CCUG63582.

Prov 47, taget på tvål- och spritautomaterna på toaletten i väntrummet, blev initialt negativt för *nuc* och analyserades därför ytterligare en gång på både MALDI-TOF och PCR för att kontrollera att analys svaret var korrekt. Resultatet vid den andra undersökningen var dock detsamma som vid den första.

Inget av de analyserade proverna bar på generna *mecA_{LG251}/mecC* eller PVL.

Prover

I tabell 1 ses en lista över de prover som togs, med redovisad provtagningsplats, datum för provtagning, samt resultatet av analyserna. De första 23 proverna (motsvara de första två provtagningsstillfällena) är enbart poolade prover, för att göra en inventering av var på kliniken *S. aureus* kunde påvisas i miljön. På de platser där *S. aureus* påträffades togs sedan separerade prover för att kartlägga på vilka ytor bakterien fanns. Några områden provtogs inte i den första poolade omgången utan tillkom senare. Anledningen till att MRSA-positiva ytor inte provtogs ytterligare en gång var att PCR med konfirmering av resistensgener genomfördes först efter att provtagningen var avslutad.

Bara prover med misstänkta kolonier från odling analyserades på MALDI-TOF. I tabell 1 redovisas endast om *S. aureus* (*S.a.*) respektive *S. pseudintermedius* (*S.p.*) påvisats i provet eller ej. Även andra stafylokocker identifierades med hjälp av analysinstrumentets mjukvara, men ingen ytterligare analys gjordes över deras betydelse varför de inte redovisas närmare.

Det inte finns något statistiskt säkerställt samband mellan typ av yta (humankontakt, djurkontaktyta eller blandning) och förekomst av *S. aureus*. Antalet prover med konfirmerade MRSA är för litet för att kunna göra några statistiska beräkningar på.

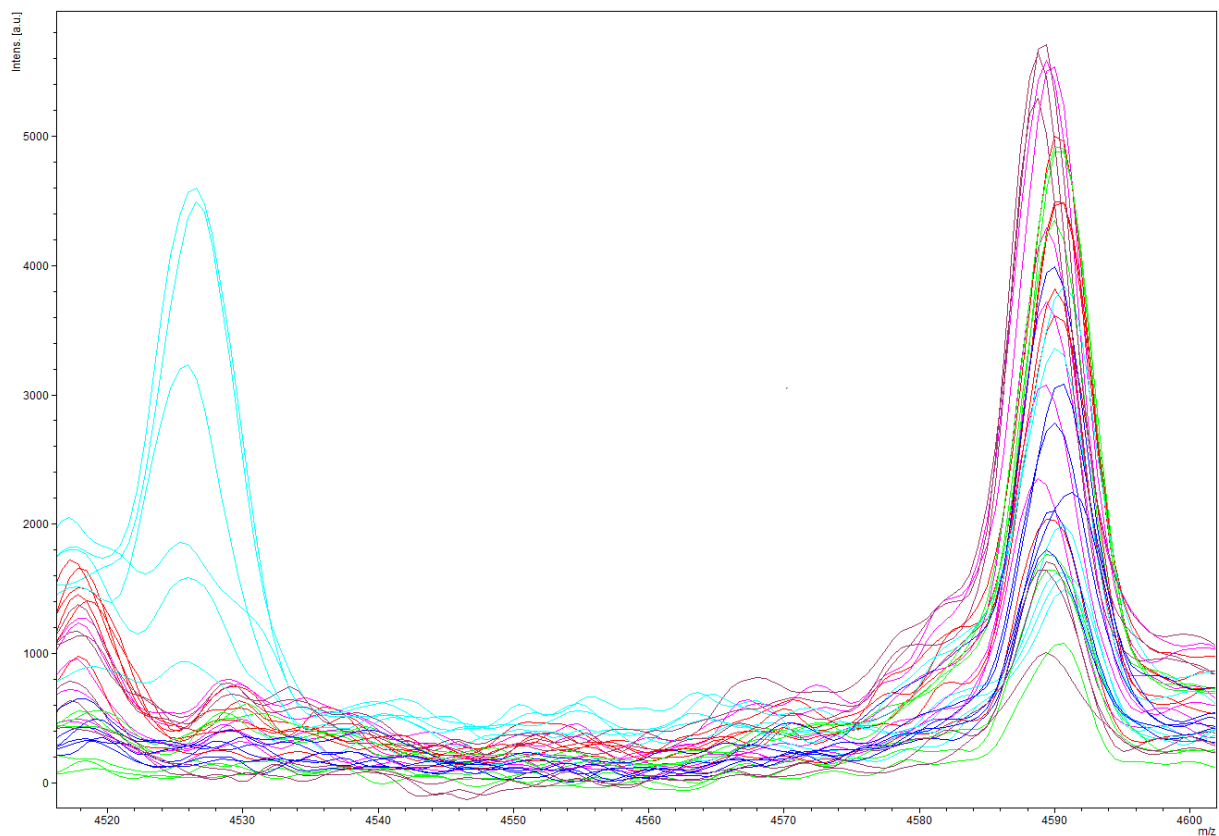
Tabell 1. Prover (provtagningsplats, datum, analysresultat från MALDI-TOF (*S.a.* = kolonier identifierade som *S. aureus*, Neg *S.a./S.p.* = varken *S. aureus* eller *S. pseudintermedius* påvisa, Ej MALDI = provet analyserades inte med MALDI-TOF pga. inga misstänkta kolonier vid odling)

Prov	Provtagningsplats	Datum	Resultat MALDI, PCR, kommentar
1	Väntrum - poolat	170910	<i>S.a.</i> (1:1, 1:4 ”möjlig MRSA” enligt MALDI), <i>nuc</i>
2	Toalett, väntrum – poolat	170910	<i>S.a.</i> , <i>nuc</i>
3	Operationssal - poolat	170910	<i>S.a.</i> (3:2 ”möjlig MRSA” enligt MALDI), <i>nuc</i>
4	Specialistrummet/pol 1 - poolat	170910	Neg <i>S.a.</i> / <i>S.p.</i>
5	Golv Hovleden – poolat	170910	<i>S.a.</i> , <i>nuc</i>
6	Endoskopirummet – poolat	170910	<i>S.a.</i> , <i>nuc</i>
7	Stall 2 – poolat	170910	Ej MALDI
8	Vårdkontor – poolat	170910	<i>S.a.</i> , <i>nuc</i>
9	Kök – poolat	170910	Ej MALDI
10	Iso 6-9 – poolat	170910	<i>S.a.</i> , <i>nuc</i>
11	Toalett, stall – poolat	170910	Ej MALDI
12	Läkemedelsrum – poolat	170910, 170918	Ej MALDI, Ingen växt alls 170910, provet togs därför om 170918
13	Stall 1 – poolat	170918	Ej MALDI
14	Stall 5 – poolat	170918	Neg <i>S.a.</i> / <i>S.p.</i>
15	Stall 3 – poolat	170918	Ej MALDI
16	Stall 4 (plus fölförrådet) – poolat	170918	Neg <i>S.a.</i> / <i>S.p.</i>
17	Iso 1-5 – poolat	170918	Neg <i>S.a.</i> / <i>S.p.</i>
18	IVA-stall – poolat	170918	<i>S.a.</i> , <i>nuc</i> , <i>mecA</i> , stora blå kolonier på chrom
19	IVA-torget – poolat	170918	Ej MALDI
20	Diskrummet – poolat	170918	Neg <i>S.a.</i> / <i>S.p.</i>
21	Poliklinikrum – poolat	170918	Neg <i>S.a.</i> / <i>S.p.</i>
22	Reception – poolat	170918	<i>S.a.</i> , <i>nuc</i>
23	Bild – poolat	170918	Ej MALDI
24	IVA – handtag	170925	<i>S.a.</i> , <i>nuc</i>

25	IVA – boxdörr	170925	Neg <i>S.a.</i> / <i>S.p.</i>
26	IVA – knapp	170925	<i>S.a.</i> (26:1 ”möjlig MRSA” enligt MALDI), <i>nuc</i>
27	IVA – sopborstar	170925	<i>S.a.</i> , <i>nuc</i> , provytor nyligen avspritade i ena stallet/fortfarande blöta
28	IVA – droppsnöre	170925	<i>S.a.</i> , <i>nuc</i>
29	Endoskopirum – handtag	170925	Neg <i>S.a.</i> / <i>S.p.</i>
30	Endoskopirum – undersökningsspilta	170925	Ej MALDI
31	Endoskopirum – tangentbord	170925	Neg <i>S.a.</i> / <i>S.p.</i>
32	Endoskopirum – kranar	170925	Neg <i>S.a.</i> / <i>S.p.</i>
33	Endoskopirum – maskinen	170925	Neg <i>S.a.</i> / <i>S.p.</i>
34	OP – tangentbord	171001	Ej MALDI
35	OP – anestesimaskin	171001	Ej MALDI
36	OP – Handtag	171001	Ej MALDI
37	OP – operationsbord/kuddar	171001	Ej MALDI
38	Veterinärkontor – telefoner	171001	<i>S.a.</i> , <i>nuc</i> , <i>mecA</i> , Stora blå kolonier på Chrom ->från blod och chrom
39	Veterinärkontor – tangentbord	171001	<i>S.a.</i> (39:1 ”möjlig MRSA” från MALDI), <i>nuc</i>
40	Veterinärkontor – dammsugare/sop	171001	Neg <i>S.a.</i> / <i>S.p.</i>
41	Dagstallet – poolat	171001	<i>S.a.</i> , <i>nuc</i>
42	Väntrum – kaffemaskin	171001	<i>S.a.</i> , <i>nuc</i>
43	Väntrum – handtag	171001	<i>S.a.</i> , <i>nuc</i>
44	Väntrum – ”glada gubbar”	171001	Neg <i>S.a.</i> / <i>S.p.</i>
45	Kundtoalett – spolknapp	171001	Ej MALDI
46	Kundtoalett – handtag	171001	<i>S.a.</i> (46:1, 46:2 ”möjlig MRSA” från MALDI), <i>nuc</i>
47	Kundtoalett – tvål/sprit	171001	<i>S.a.</i> , <i>nuc</i> negativ
48	Dagstall: boxar	171008	Ej MALDI
49	Dagstall: tagställen	171008	Ej MALDI

50	Dagstall: handtag	171008	Ej MALDI
51	Golv hovleden: pol	171008	Ej MALDI
52	Golv hovleden: bild	171008	Neg <i>S.a.</i> / <i>S.p.</i>
53	Golv hovleden: vård	171008	<i>S.a.</i> , <i>nuc</i>
54	Golv Bettringsvägen	171008	Neg <i>S.a.</i> / <i>S.p.</i>
55	Iso: tagställen	171008	Ej MALDI
56	Iso: golv	171008	<i>S.a.</i> , <i>nuc</i>
57	Iso: stora slussen	171008	Ej MALDI
58	Iso: handtag	171008	Neg <i>S.a.</i> / <i>S.p.</i>
59	Receptionen: tagställen (inkl. handtag)	171008	<i>S.a.</i> (59:2 "möjlig MRSA" från MALDI), <i>nuc</i> , <i>mecA</i> , stora blå kolonier på chrom
60	Receptionen: betalstation	171008	<i>S.a.</i> , <i>nuc</i>
61	Receptionen: tangentbordet	171008	Ej MALDI
62	Spolspilta	171013	Ej MALDI
63	Bandagevagn	171013	Ej MALDI
64	IVA kontoret	171013	Ej MALDI
65	"lilla labbet"	171013	Ej MALDI

Ingen skillnad kunde påvisas vid jämförelser av spektran från MALDI-TOF undersökningen mellan de olika isolaten från denna studie, och de två kontrollstammar med humant ursprung. Vissa toppar skiljde sig i höjd mellan proverna och kontrollerna, men alla toppar fanns hos alla prover. Vid tolkning av resultat från MALDI-TOF ses främst till förekomst av toppar hos enskilda av de jämförda proverna som är intressant, snarare än höjden på topparna (Figur 1).



Figur 1. Spektra från MALDI-TOF av *mecA*-positiva prover, prov negativt för *nuc* samt två referensstammar av humant ursprung, som tillsammans är positiva för alla fyra resistensgener; *nuc*, *mecA*, *mecC/mecA_{LAGA251}* och PVL. X-axeln anger massa (Dalton) och y-axeln intensitet. Cerise: prov nr 18, rött: prov nr 38, turkost: prov nr 47 grön: prov nr 59, blå: CCUG60578, vinröd: CCUG62582. För varje prov analyserades flera replikat varför det är flera linjer av varje färg.

Prov 47, som var negativt för *nuc* och som analyserades främst med avseende på arttillhörighet, hade en förskjutning i en topp vid ca 4526 Da, jämfört med de andra isolaten (Figur 1). Toppen till höger i bilden visar en topp som finns hos alla prover i denna analys, varför den inte är intressant ur ett subtypningsperspektiv. Variationer upp till 1000 Da på y-axeln räknas som bakgrundsbrus och toppar i intervallet 0-ca1000 Da kan vara effekter pga. påverkan från agarplattan.

DISKUSSION

I studien påvisades MRSA från tre olika prover vilket var föga överraskande, om än icke önskvärt ur klinisk synvinkel. MRSA-positiva prov togs framförallt i humana miljöer, vilket skulle kunna indikera att MRSA sprids inom sjukhuset av personal eller bland djurägare. Detta överensstämmer med flertalet tidigare studier (Seguin *et al.*, 1999; van Duijkeren *et al.*, 2010; Pletinckx *et al.*, 2013; Bortolami *et al.*, 2017; Rojas *et al.*, 2017; Walter *et al.*, 2017). Enligt uppgift har MRSA förekommit bland personalen men ingen screening av hela personalstyrkan har genomförts (Perttula, personligt meddelande, 2017). Att det skulle förekomma MRSA i en miljö likt den på ett hästsjukhus är mycket troligt med tanke på det relativt höga antibiotiketryck som finns där jämfört med en ”normalmiljö” (Dancer *et al.*, 2006).

Noterbart är att de prover som testade positivt för *mecA*, var desamma som hade ett typiskt utseende på chromagarplattorna; stora blå kolonier utväxta efter 24h. Ett av dessa prover blev också indikerat som misstänkt MRSA-positivt från analysen på MALDI-TOF (nr 59), men inte de två andra. Ytterligare fem andra prover var misstänkta MRSA vid MALDI-TOF analys, men var negativa för *mecA*. Detta indikerar att markeringen om misstänkt MRSA från just denna MALDI-TOF inte är helt tillförlitlig, alternativt att analysförfarandet ger upphov till felkällan.

MRSA med *mecA*_{ALGA251}/*mecC* gener har bara påträffats i Sverige vid ett fåtal tillfällen, och aldrig hos hästdjur, varför frånvaron av positiva resultat för denna gen var förväntat (Swedres-Svarm, 2016). Detsamma gäller PVL.

En brittisk studie har visat på ett visst samband mellan hög användning av antibiotika och förekomst av resistenta bakterier i sjukhusmiljön, medan en australiensisk studie pekar på svårigheterna att på ett tillräckligt bra sätt städa i sjukhusmiljö, då det ofta krävs mekanisk rengöring för att avlägsna biofilm (Dancer *et al.*, 2005; Vickery *et al.*, 2011). Samma australiensiska studie visade också att biofilm med viabla bakterier kan kvarstå trots rengöring följt av desinfektion med klorin (Vickery *et al.*, 2012). Då *Staphylococcus* spp. är kända för att bilda biofilm kan ovanstående resonemang i högsta grad kan appliceras på MRSA (Quinn *et al.*, 2011). Flera studier har även visat på förekomst av MRSA i hästklinikmiljö och att stammar verkar ha en tendens att cirkulera inom kliniken, möjligtvis spridd med personal (van Duijkeren *et al.*, 2010; van Balen *et al.*, 2014).

För studiens ursprungliga syfte, att undersöka förekomst av MRSA vid ett hästsjukhus, var den valda metodiken lämplig; snabb, billig och, framförallt, enkel. Initial bedömning av MRSA-förekomst gjordes med chromogena agarplattor, artbestämning med hjälp av MALDI-TOF och uppföljande PCR-analys för identifiering av bärarskap av resistensgener. Metoden med inkubering av proverna i två steg har även i andra studier visat sig ha en fördel framför metoder utan det första anrikningssteget, framförallt vid odling av MRSA av typen CC398 (van Duijkeren *et al.*, 2010). PCR är ett tillförlitligt och snabbt sätt att identifiera MRSA och den använda metoden är validerad för de båda resistensgenerna *mecA* och *mecC*/_{ALGA251} som påträffats hos djur i Sverige (Pichon *et al.*, 2012; Swedres-Svarm, 2016).

Vanligt vid studier av MRSA är användning av antibiotikaberikade odlingsplattor för bestämning av MIC-värden för olika antibiotika (Peterson *et al.*, 2012; Pletinckx *et al.*, 2013; Van den Eede *et al.*, 2013a; Rojas *et al.*, 2017). Denna studie syftar dock inte till att undersöka något annat än eventuell förekomst av MRSA på den undersökta kliniken varför det inte ansetts som nödvändigt att undersöka MIC-värden för att uppnå studiens syfte. Provmaterialet från

studien finns dock sparat om det skulle finnas ett behov av att fastställa t.ex. MIC-värden i framtiden.

En svårighet vid sammanställning av artiklar om MRSA är att det finns flera olika sätt att typa dem och det finns ingen tydlig ”översättning” mellan de olika typningsmetoderna. Den vanligaste metoden, ”gold standard” är har länge varit PFGE och MLST, men många av de konventionella teknikerna ses nu som dyra och långsamma varför andra tekniker som tex MALDI-TOF undersöks som alternativ (Zhang *et al.*, 2015). Detta resulterar i att olika studier klassificerar påvisade stammar med helt olika metoder, vilket leder till att jämförelser i många fall blir svåra att göra.

Det finns inga entydiga belegg för att MALDI-TOF är en användbar metod för att typa MRSA, vissa studier uppger att det med denna metod, med god säkerhet går att skilja MSSA från MRSA och att typa MRSA, medan andra vidhåller att detta inte går att göra med tillräcklig säkerhet (Lasch *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2015). Andra studier pekar ut MALDI-TOF som ett nyttigt verktyg i kombination med andra analyser, men att det troligtvis behövs fler studier och kartläggningar av fler stammar (Zhang *et al.*, 2015). Vid undersökning av den MRSA som hittats vid denna studie kunde inga skillnader i toppar påvisas mellan de analyserade MRSA-isolaten, alla toppar delades av alla prover. Detta pekar på att det med hög sannolikhet är samma stam som hittats på alla de tre provtagningsplatserna. Då alla toppar även överensstämde med de kontrollstammar som kördes vid samma tillfälle, CCUG60578 och CCUG 63572 vilka är kliniska isolat från humanvården, ger det en indikation om att det skulle kunna vara en humanstam som hittats i studien och inte CC398 som ofta hittats vid fall på häst och som förekommit vid tidigare utbrott på denna klinik (Cuny & Witte, 2017; Perttula, pers. meddelande, 2017).

Ett fjärde prov, nr 47, kördes parallellt med de andra vid MALDI-TOF, för konfirmering av arttillhörighet. Likt vid tidigare körning identifierades det som *S. aureus*, men *q*-PCR visade negativt för *nuc*-genen som anses finnas hos alla *S. aureus* (Pichon *et al.*, 2012). Vid MALDI-TOF undersökningen visade provet också ett något avvikande mönster från de övriga proverna, bland annat något förskjutet topp vid 4526 Da (figur 1). Detta kan dock bero på en skillnad i aminosyrasekvens i ett protein jämför med de övriga proverna.

Med tanke på MRSA-utbrottet som nära föregick denna studie hade det varit intressant att kunna jämföra de påvisade isolaten av MRSA med de tidigare. För att göra detta skulle det dock krävas *spa*-typning av proverna tagna i denna studie. Utan att veta *spa*-tillhörighet för de senast funna proverna går det enbart att spekulera om eventuella samband.

En jämförelse mellan MRSA-isolaten som påvisats vid denna undersökning och stammen som orsakade sommarens utbrott, skulle kunna ge svar på om det är samma stam som fortfarande cirkulerar eller om det är en annan källa till förekomsten. Tidigare studier har visat att samma MRSA-stam kan cirkulera inom ett sjukhus, liksom att en specifik variant som påträffats kan försvinna, ibland flera månader, för att sedan dyka upp igen på en annan del av sjukhuset (Van Balen *et al.*, 2014).

Den MRSA-stam som drabbade patienten i somras var av humantyp och två av de tre platserna där MRSA återfanns i denna undersökning var strikt humana kontaktytor (klinikens reception respektive veterinärkontorets telefoner). MRSA-stammen från i somras tillhörde en stam som främst hittats i Afrika söder om Sahara, där den i flera studier är bland de vanligast

förekommande typerna, 18,6 respektive 21,9 % av MRSA-fallen (Perovic *et al.*, 2017, Samutela *et al.*, 2017). Vid tidigare utbrott på samma klinik som studien genomfördes har den betydligt vanligare CC398, t011 hittats, liksom vid det första fyndet av MRSA på häst i Sverige (Bergström *et al.*, 2012a).

De personer i personalstyrkan som hade sår som inte läkt uppmanades att provta sig och hos två personer påvisades MRSA (Perttula, pers. medd., 2017). Detta stämmer väl överens med tidigare studier som visat att personer med kontakt med MRSA-infekterade hästar kan vara bärare av MRSA och i vissa fall sannolik källa till infektionen hos hästarna (Seguin *et al.*, 1999; van Duijkeren *et al.*, 2010). Just förekomsten bland personalen skulle kunna vara en känslig fråga då det skulle kunna uppfattas som stigmatiserande att utpekas som källa till utbrottet. Den som misstänker sig vara bärare av en smittsam eller allmänfarlig sjukdom, till vilka MRSA räknas, skall enligt smittskyddslagen, utan dröjsmål undersökas av läkare. Smittskyddslagen omfattar dock inte misstänkt bärarskap av MRSA, varför det inte finns lagstöd för att tvinga hela personalgruppen att provta sig för MRSA (SFS 2004:168). Ur kartläggningssynpunkt skulle det dock vara mycket intressant, bland annat för att studera bärarskapet över tid. MRSA-förekomsten på ett sjukhus är ofta en spegling av situationen i dess upptagningsområde, varför alla kliniker står inför en unik situation (Rojas *et al.*, 2017).

Ett större saneringsarbete genomfördes i samband med konstaterandet av MRSA och nya rutiner infördes, bland annat spritning av humana tagställen minst två ggr/dag. Denna studie har givit en indikation på att dessa rutiner har god effekt då MRSA som påvisades vid provtagning av IVA-stallet inte kunde påvisas vid uppföljande provtagning utan förefaller ha sanerats bort.

Förekomsten av MRSA i ett prov taget under helgtid, visar på vikten av att personalen har möjlighet att upprätthålla städrutiner även på helg och jourtid, för att möjliggöra ett gott smittskyddsarbete och bryta smittvägar. Detta är särskilt viktigt då miljön visat sig vara en möjlig källa till överföring av MRSA och att personal inom djurens hälso- och sjukvård därmed löper en ökad risk att drabbas (Pletinckx *et al.*, 2013; Grönlund Andersson *et al.*, 2014). Ytterligare en aspekt är att den variant som är vanligast förekommande på häst i Sverige, CC/ST398, i studier har visat sig ha potential att utveckla en humant anpassad form med flera virulens-associerade egenskaper, varför upprepad överföring mellan människa och häst bör undvikas (van der Mee-Marquet *et al.*, 2014). Strikta hygienåtgärder är därmed rekommenderat vid hantering av hästar med påvisad MRSA för att undvika att föra den vidare. Detta gäller även i de fall då personer som är bärare av MRSA hanterar hästar och jobbar i klinikmiljö; noga handhygien och goda städrutiner minimerar risken för överföring människa-häst.

KONKLUSION

Meticillinresistent *Staphylococcus aureus*, MRSA, påträffades vid tre provtagningsplatser på den aktuella kliniken; i ett poolat prov från kontaktytor för både djur och människor och i två prover från strikt humana kontaktytor, såsom telefoner respektive receptionen. Vid analys av isolaten med hjälp av MALDI-TOF, kunde ingen skillnad ses mellan stammarna påvisade i studien och de stammar med humant ursprung som användes som kontroll. Det är dock omdiskuterat hur tillförlitligt MALDI-TOF är som metod för identifiering av stammar, varför en vedertagen analysmetod, t.ex. *spa*-typning, är nödvändig. Det skulle dessutom möjliggöra jämförelse med prover tagna vid ett MRSA-utbrott på den aktuella kliniken några månader föregående denna studie. Kliniken var friförklarad från MRSA, efter miljöprovtagning med negativt resultat bara ca tre veckor före den aktuella studien påbörjades. Den *spa*-typ som identifierades vid utbrottet, t1257, har påvisats vid infektioner hos människa, men inte i Sverige, utan främst i Afrika söder om Sahara. Av den anledningen vore det mycket intressant att analysera de MRSA-positiva prover som påvisades i denna studie, för att få en uppfattning om de hör till samma typ eller någon annan mer vanligt förekommande i Sverige. Oavsett typning är ett fortsatt hygienarbete inom djurens hälso- och sjukvård av största vikt för att bryta smittvägar och stoppa ytterligare smittspridning, där strikt handhygien är den viktigaste komponenten. De utökade rutiner med spritning av tagställen på kliniken förefaller ha effekt, då MRSA som påträffats i IVA-stallet inte kunde påvisas vid uppföljande provtagning veckan därpå. Då de tre positiva proverna är tagna vid tre olika tillfällen, går det inte helt att utesluta att MRSA cirkulerar på kliniken. För att med säkerhet kunna veta att så är fallet krävs dock längre studier där samma provtagningspunkter provtas upprepade gånger under en längre tidsperiod.

REFERENSER

Artiklar

- Barber, M., 1961. *Methicillin-resistant staphylococci*. J. Clin. Pathol. 14, 385.
- Bergström, K., Aspan, A., Landén, A., Johnston, C., Grönlund-Andersson, U., 2012a. *The first nosocomial outbreak of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in horses in Sweden*. Acta Vet. Scand. 54, 11.
- Bergström, K., Bengtsson, B., Nyman, A., Grönlund Andersson, U., 2013. *Longitudinal study of horses for carriage of methicillin-resistant Staphylococcus aureus following wound infections*. Vet. Microbiol. 163, 388–391. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.01.004>
- Bergström, K., Nyman, G., Widgren, S., Johnston, C., Grönlund-Andersson, U., Ransjö, U., 2012b. *Infection prevention and control interventions in the first outbreak of methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections in an equine hospital in Sweden*. Acta Vet. Scand. 54, 14.
- Bortolami, A., Williams, N.J., McGowan, C.M., Kelly, P.G., Archer, D.C., Corró, 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*. Sci. Rep. 7, 5499. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-05559-8>
- Boyle, A.G., Rankin, S.C., Duffee, L.A., Morris, D., 2017. *Prevalence of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus from Equine Nasopharyngeal and Guttural Pouch Wash Samples*. J. Vet. Intern. Med. 31, 1551–1555. <https://doi.org/10.1111/jvim.14783>
- Capurro, A., Artursson, K., Waller, K., Bengtsson, B., Ericssonunnerstad, 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*. Vet. Microbiol. 134, 327–333. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.08.028>
- Cuny, C., Abdelbary, M.M.H., Köck, R., Layer, F., Scheidemann, W., Werner, G., Witte, W., 2016. *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus from infections in horses in Germany are frequent colonizers of veterinarians but rare among MRSA from infections in humans*. One Health 2, 11–17. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2015.11.004>
- Cuny, C., Witte, W., 2017. *MRSA in equine hospitals and its significance for infections in humans*. Vet. Microbiol., SI: Antimicrobial Resistance 200, 59–64. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.01.013>
- Dancer, S.J., Coyne, M., Robertson, C., Thomson, A., Guleri, A., Alcock, S., 2006. *Antibiotic use is associated with resistance of environmental organisms in a teaching hospital*. J. Hosp. Infect. 62, 200–206. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2005.06.033>
- Deiters, C., Günnewig, V., Friedrich, A.W., Mellmann, A., Köck, R., 2015. *Are cases of Methicillin-resistant Staphylococcus aureus clonal complex (CC) 398 among humans still livestock-associated?* Int. J. Med. Microbiol. 305, 110–113. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2014.11.007>
- Devriese, L.A., Van Damme, L.R., Fameree, L., 1972. *Methicillin (cloxacillin)-resistant Staphylococcus aureus strains isolated from bovine mastitis cases*. Zentralblatt Vet. Reihe B J. Vet. Med. Ser. B 19, 598–605.
- for GERMS-SA, Perovic, O., Singh-Moodley, A., Govender, N.P., Kularatne, R., Whitelaw, A., Chibabhai, V., Naicker, P., Mbelle, N., Lekalakala, R., Quan, V., Samuel, C., Van Schalkwyk, E., 2017. *A small proportion of community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus*

- bacteraemia, compared to healthcare-associated cases, in two South African provinces.* Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 36, 2519–2532. <https://doi.org/10.1007/s10096-017-3096-3>
- Grönlund Andersson, U., Wallensten, A., Hæggen, S., Greko, C., Hedin, G., Hökeberg, I., Lindström, F., Olsson-Liljequist, B., Smedjegård, J., Söderblom, T., Windahl, U., Struwe, J., 2014. *Outbreaks of methicillin-resistant Staphylococcus aureus among staff and dogs in Swedish small animal hospitals.* Scand. J. Infect. Dis. 46, 310–314. <https://doi.org/10.3109/00365548.2013.866267>
- Jevons, M.P., 1961. “*Celbenin*”-resistant staphylococci. Br. Med. J. 1, 124.
- Lasch, P., Fleige, C., Stämmeler, M., Layer, F., Nübel, U., Witte, W., Werner, G., 2014. *Insufficient discriminatory power of MALDI-TOF mass spectrometry for typing of Enterococcus faecium and Staphylococcus aureus isolates.* J. Microbiol. Methods 100, 58–69. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2014.02.015>
- O’Mahony, R., Abbott, Y., Leonard, F.C., Markey, B.K., Quinn, P.J., Pollock, P.J., Fanning, S., Rossney, A.S., 2005. *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) isolated from animals and veterinary personnel in Ireland.* Vet. Microbiol. 109, 285–296. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2005.06.003>
- Peterson, A.E., Davis, M.F., Awantang, G., Limbago, B., Fosheim, G.E., Silbergeld, E.K., 2012. *Correlation between animal nasal carriage and environmental methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolates at U.S. horse and cattle farms.* Vet. Microbiol. 160, 539–543. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.06.032>
- 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, Pantone-Valentine leucocidin (PVL), mecA and homologue mecALGA251.* J. Antimicrob. Chemother. 67, 2338–2341. <https://doi.org/10.1093/jac/dks221>
- Pletinckx, L.J., Verheghe, M., Crombé, F., Dewulf, J., De Bleeker, Y., Rasschaert, G., Butaye, P., Goddeeris, B.M., De Man, I., 2013. *Evidence of possible methicillin-resistant Staphylococcus aureus ST398 spread between pigs and other animals and people residing on the same farm.* Prev. Vet. Med. 109, 293–303. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2012.10.019>
- 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 Zoonotic Dis. 17, 645–653. <https://doi.org/10.1089/vbz.2017.2145>
- Seguin, J.C., Walker, R.D., Caron, J.P., Kloos, W.E., George, C.G., Hollis, R.J., Jones, R.N., Pfaller, M.A., 1999. *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Outbreak in a Veterinary Teaching Hospital: Potential Human-to-Animal Transmission.* J. Clin. Microbiol. 37, 1459–1463.
- Unnerstad, H.E., Wahlström, H., Molander, B., Bengtsson, B., 2017. *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus not detected in Swedish nucleus and multiplying pig herds.* Infect. Ecol. Epidemiol. 7. <https://doi.org/10.1080/20008686.2017.1313068>
- 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.* Vet. Res. 45, 31.
- Van den Eede, A., Hermans, K., Van den Abeele, A., Floré, K., Dewulf, J., Vanderhaeghen, W., Némeghaire, S., Butaye, P., Gasthuys, F., Haesebrouck, F., Martens, A., 2013a. *The nasal vestibulum is the optimal sampling site for MRSA screening in hospitalised horses.* Vet. J. 197, 415–419. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.01.031>

- Van den Eede, A., Martens, A., Floré, K., Denis, O., Gasthuys, F., Haesebrouck, F., Van den Abeele, A., Hermans, K., 2013b. *MRSA carriage in the equine community: An investigation of horse-care taker couples*. *Vet. Microbiol.* 163, 313–318. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.12.038>
- van der Mee-Marquet, N.L., Corvaglia, A., Haenni, M., Bertrand, X., Franck, J.-B., Kluytmans, J., Girard, M., Quentin, R., François, P., 2014. *Emergence of a novel subpopulation of CC398 Staphylococcus aureus infecting animals is a serious hazard for humans*. *Front. Microbiol.* 5. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00652>
- van Duijkeren, E., Moleman, M., Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan, M.M., Multem, J., Troelstra, A., Fluit, A.C., van Wamel, W.J.B., Houwers, D.J., de Neeling, A.J., Wagenaar, J.A., 2010. *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in horses and horse personnel: An investigation of several outbreaks*. *Vet. Microbiol.* 141, 96–102. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.08.009>
- Vickery, K., Deva, A., Jacombs, A., Allan, J., Valente, P., Gosbell, I.B., 2012. *Presence of biofilm containing viable multiresistant organisms despite terminal cleaning on clinical surfaces in an intensive care unit*. *J. Hosp. Infect.* 80, 52–55. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2011.07.007>
- Vincze, S., Stamm, I., Kopp, P.A., Hermes, J., Adlhoch, C., Semmler, T., Wieler, L.H., Lübke-Becker, A., Walther, B., 2014. *Alarming Proportions of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in Wound Samples from Companion Animals, Germany 2010–2012*. *PLOS ONE* 9, e85656. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085656>
- Voss, A., Loeffen, F., Bakker, J., Klaassen, C., Wulf, M., 2005. *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in pig farming*. *Emerg. Infect. Dis.* 11, 1965.
- Wagenvoort, J.H.T., Sluijsmans, W., Penders, R.J.R., 2000. *Better environmental survival of outbreak vs. sporadic MRSA isolates*. *J. Hosp. Infect.* 45, 231–234. <https://doi.org/10.1053/jhin.2000.0757>
- Walter, J., Espelage, W., Adlhoch, C., Cuny, C., Schink, S., Jansen, A., Witte, W., Eckmanns, T., Hermes, J., 2017. *Persistence of nasal colonisation with methicillin resistant Staphylococcus aureus CC398 among participants of veterinary conferences and occurrence among their household members: A prospective cohort study, Germany 2008–2014*. *Vet. Microbiol., SI: Antimicrobial Resistance* 200, 13–18. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.03.015>
- Wolters, M., Rohde, H., Maier, T., Belmar-Campos, C., Franke, G., Scherpe, S., Aepfelbacher, M., Christner, M., 2011. *MALDI-TOF MS fingerprinting allows for discrimination of major methicillin-resistant Staphylococcus aureus lineages*. *Int. J. Med. Microbiol.* 301, 64–68. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2010.06.002>
- Zhang, T., Ding, J., Rao, X., Yu, J., Chu, M., Ren, W., Wang, L., Xue, W., 2015. *Analysis of methicillin-resistant Staphylococcus aureus major clonal lineages by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI–TOF MS)*. *J. Microbiol. Methods* 117, 122–127. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2015.08.002>

Böcker

Quinn, P.J. (Ed.), (2011). *Veterinary microbiology and microbial disease*, 2. ed. Wiley-Blackwell, Chichester, West Sussex.

Lagar, förordningar och föreskrifter

Föreskrift om ändring i Statens Jordbruksverks föreskrifter (SJVFS 2012:24) om anmälningspliktiga djursjukdomar och smittämnen (2013). Jönköping. (SJVFS 2013:23, Saknr. K4)

Smittskyddslag (2004). Stockholm. (SFS 2004:168)

Statens Jordbruksverks föreskrifter och allmänna råd om förebyggande och särskilda åtgärder avseende hygien m.m. för att förhindra spridning av zoonoser och andra smittämnen (2013). Jönköping. (SJVFS 2013:14, Saknr. K112)

Rapporter

Swedres-Svarm 2016. *Consumption of antibiotics and occurrence of resistance in Sweden*. Solna/Uppsala ISSN1650-6332