



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och
husdjursvetenskap

Institutionen för biomedicin och veterinär
folkhälsovetenskap

ESBL hos livsmedelsproducerande djur

Riskfaktorer och förebyggande åtgärder

Rebecka Albinsson

*Uppsala
2018*

ESBL hos livsmedelsproducerande djur

Riskfaktorer och förebyggande åtgärder

ESBL in food-producing animals

Risk factors and preventive measures

Rebecka Albinsson

Handledare: *Ingrid Hansson, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap*

Examinator: *Maria Löfgren, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap*

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: Grundnivå, G2E

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX0700

Program/utbildning: Veterinärprogrammet

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2018

Serienamn: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen

Delnummer i serien: 2018:3

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

Nyckelord: ESBL, antibiotikaresistens, *E. coli*, livsmedelsproducerande djur

Key words: ESBL, antimicrobial resistance, *E. coli*, food-producing animals

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning	1
Summary	2
Inledning	3
Material och metoder	3
Litteraturoversikt.....	4
Vad är extended-spectrum β -lactamases?	4
Typer av ESBL.....	4
<i>ESBL_A</i>	5
<i>ESBL_M</i>	5
<i>ESBL_{CARBA}</i>	5
Riskfaktorer för spridning av ESBL	6
Antibiotikabehandling	6
Vertikal smittspridning	7
Foder.....	8
Inhynings- och skötselfaktorer	8
Ekologisk produktion.....	10
Förebyggande åtgärder	10
Probiotika.....	11
Diskussion	11
Litteraturförteckning	14

SAMMANFATTNING

Antibiotika är ett av de viktigaste läkemedlen i dagens sjukvård, men dessvärre ses en allt mer utbredd resistensutveckling. En typ av antibiotikaresistenta bakterier är ESBL-producerande bakterier. ESBL står för ”extended-spectrum beta-lactamases” och är en resistensmekanism hos bakterier som möjliggör nedbrytning av β -laktamantibiotika, till exempel penicillin och cefalosporiner, och gör att de läkemedlen förlorar sin verkan. ESBL-producerande bakterier är vanligt förekommande hos många djur, speciellt bland kyckling, men även hos nöt och gris. Detta arbete fokuserar på vilka riskfaktorer som finns för introduktion och spridning av ESBL hos kyckling, nöt och gris på besättningsnivå, samt vilka förebyggande åtgärder som skulle kunna tillämpas för att minska förekomsten av ESBL hos dessa djurslag.

Antibiotikabehandling är en av de största riskfaktorerna för uppkomsten av ESBL, eftersom det selekterar fram de resistenta bakterierna. För ESBL är det framför allt behandlingen med cefalosporiner med utökat spektrum (andra-, tredje- och fjärde generationen) som är en riskfaktor. Svenska kycklingar behandlas mycket sällan med antibiotika, men trots det förekommer ESBL-producerande bakterier. För kyckling är även överföring av ESBL vertikalt i avelspyramiden och en spridning från kycklingarnas närmiljö viktiga riskfaktorer. ESBL-producerande bakterier är svåra att ta bort och har påvisats även i rengjorda och desinficerade kycklingstall. En annan riskfaktor är utfodring med mineralfoder (koppars och zink), då det observerats co-resistens mellan dessa metaller och antibiotika. Studier av gris och nöt tyder på att andra riskfaktorer är bristande biosäkerhet och en intensiv produktion. Flugor har pekats ut som en möjlig vektor för ESBL-producerande bakterier. Mjölkkor i ekologisk produktion har en lägre prevalens av ESBL-producerande bakterier än mjölkkor i konventionell produktion, något som kopplats till en lägre antibiotikaanvändning.

En viktig förebyggande åtgärd är att minska användningen av tredje och fjärde generationens cefalosporiner. I Sverige finns redan lagstiftning som reducerar användning av detta antibiotikum. Antibiotikaresistens övervakas i övervakningsprogram både inom EU och nationellt. Att ge probiotika till nykläckta kycklingar har också visat sig reducera förekomsten av ESBL.

Ytterligare forskning är nödvändig avseende optimala rengöringsrutiner för kycklingstall, och hur förekomsten av ESBL-producerande bakterier i kycklingarnas avelspyramid kan minskas. En ökad biosäkerhet hos nöt- och grisbesättningar är en betydelsefull förebyggande åtgärd för att undvika en större utbredning av ESBL. Det är också väsentligt att det globalt sker en förändring mot en mer restriktiv antibiotikaanvändning för att stoppa utbredning av ESBL och andra antibiotikaresistenta bakterier. Arbetet mot spridningen av ESBL är viktigt och det kan göra stor skillnad om detta arbete inleds redan på besättningsnivå.

SUMMARY

Antimicrobial substances are among the most important pharmaceuticals in modern healthcare. Unfortunately, there is a growing resistance development against antimicrobials. One of these antibiotic resistant bacteria are ESBL-producing bacteria. ESBL means “extended-spectrum beta-lactamases” and this is a trait that make the bacteria able to break down β -lactam antibiotics, such as penicillin and cephalosporins, which results in them losing their mode of action. The occurrence of ESBL-producing bacteria is common in many types of animals, especially among broilers, but it can also be found among cattle and pigs. The aim of this essay is to identify risk factors for introducing and spreading ESBL among broilers, cows and pigs, as well as finding preventive measures that could be applied in order to reduce the occurrence of ESBL among food-producing animals.

Antibiotic treatment is one of the most important risk factors for the emergence of ESBL, since it selects for antimicrobial resistant bacteria. Treatment with cephalosporins with extended spectrum (second-, third- and fourth generation) is considered as the major risk factor. Swedish chickens are seldom treated with antimicrobials, but still show a high occurrence of ESBL. In broilers, spread of ESBL vertically through the breeding pyramid, along with transmission from the chickens’ environment, are considered significant risk factors. ESBL-producing bacteria have been found in the chicken houses after cleaning and disinfection, suggesting these routines need improvement. Another risk factor is the use of mineral feed additives (copper and zinc), since co-resistance between these metals and antibiotics have been observed. Flies have been suggested as a possible vector for ESBL-producing bacteria as well. In cattle and pigs, inadequate biosecurity and intensive production were associated with a higher ESBL-prevalence. Organic dairy cows have a lower prevalence of ESBL than conventional cows, presumably due to the lower use of antibiotics on the organic farms.

A vital preventive measure is to reduce the use of third and fourth generation cephalosporins. In Sweden, there is already a legislation that restricts the use of these antibiotics. The antimicrobial resistance is examined through surveillance programs; both nationally and within the EU. Also, to give newly hatched chickens probiotics as a preventive measure has been shown to have promising results in reducing ESBL.

Future research should focus on improvement of cleaning routines for chicken houses and how the occurrence of ESBL in the broiler breeding pyramid can be reduced. Improved biosecurity in cattle- and pig farms is an important preventive measure to avoid further dissemination of ESBL. Additionally, a more restricted antibiotic use at a global level is necessary to cease the current development of ESBL and other antibiotic resistant bacteria. Working toward a reduced dissemination of ESBL is an urgent issue, and if this work could be initiated already at farm-level it would be of considerable importance.

INLEDNING

Antibiotika är ett av de viktigaste läkemedlen inom både human- och djursjukvård. Det är ett av de mest betydelsefulla verktygen för hantering av mikrobiella infektioner, men dessvärre ses en ökande resistensutveckling mot antibiotika. Antibiotikaresistens är ett allvarligt globalt problem och varje år beräknas minst 700 000 människor i världen dö till följd av infektion med antibiotikaresistenta bakterier (O'Neill, 2016).

En typ av antibiotikaresistenta bakterier är ESBL-producerande bakterier. ESBL står för "extended-spectrum beta-lactamases" och är en egenskap hos bakterier som gör att de kan bryta ner β -laktamantibiotika såsom penicillin och cefalosporiner (Li *et al.*, 2007). Dessa antibiotikagrupper är klassade som "kritiskt viktiga" för behandling av sjukdomar enligt WHO (2017), varvid en resistensutveckling mot dem kan få allvarliga konsekvenser.

ESBL är ganska ovanligt på djur i Sverige, förutom på kyckling där det är relativt vanligt förekommande. Hos kycklingar som slaktades 2016 påvisades ESBL-producerande bakterier i 42 % av tarmproverna, och hos kycklingar slaktade 2015 påvisades ESBL i tarmproverna från 39 % av kycklingarna (Swedres-Svarm, 2017; Swedres-Svarm, 2016). Tarm innehåll från nötkreatur och gris undersöktes i Sverige 2015; ESBL-producerande bakterier kunde påvisas i 1 % av proverna från gris, men inte i något av proven från nötkreatur (Swedres-Svarm, 2016). Prevalensen ESBL-producerande bakterier hos kyckling inom EU varierar kraftigt, från mindre än 10 % till över 70 % hos olika medlemsländer (EFSA & ECDC, 2018). Även för gris och nöt är siffrorna mycket varierande, där vissa medlemsländer inte hittat några positiva prover medan andra rapporterar cirka 60 % prevalens (EFSA & ECDC, 2017). En hög förekomst av antibiotikaresistenta bakterier är aldrig önskvärt, så arbete för att minska ESBL-förekomsten hos livsmedelsproducerande djur är viktigt.

De frågeställningar som det här arbetet fokuserar på är vilka riskfaktorer som finns för spridning och uppkomst av ESBL på besättningsnivå hos kyckling, nöt och gris, samt hur det kan arbetas förebyggande mot ESBL på kyckling, nöt och gris.

MATERIAL OCH METODER

Arbetet är utfört som en litteraturstudie. De databaser som använts är PubMed och Web of Science, där sökningar utförts med sökorden: "extended-spectrum beta-lactamases" OR "ESBL" AND "cattle" OR "cow" OR "pig" OR "poultry" OR "broiler". Ibland har sökordet "animals" ersatt de övriga djurorden. Referenslistor från de artiklar som hittades vid databassökningen har använts för att hitta ytterligare källor. För grundläggande information har även rapporter och statistik från olika myndigheter och globala organisationer (t ex Statens veterinärmedicinska anstalt och Världshälsoorganisationen) använts, samt boken *Veterinary Microbiology and Microbial disease* (Quinn *et al.*, 2011).

LITTERATURÖVERSIKT

Vad är extended-spectrum β -lactamases?

Bakterier kan utveckla resistens mot β -laktamantibiotika på tre olika sätt: genom förändrade influx/effluxmekanismer, förändrat målprotein (PBP – Penicillin Binding Protein) eller genom att bilda β -laktamaser. Hos gramnegativa bakterier är det bildandet av β -laktamaser som är den vanligaste resistensmekanismen. Dessa enzymer kodas för antingen kromosomt eller i plasmider, och de fungerar genom att hydrolysera β -laktamringen hos antibiotikamolekylen så att läkemedlet förlorar sin verkan (Li *et al.*, 2007).

Termen ESBL användes till en början för att beskriva β -laktamaser som kunde bryta ned cefalosporiner med utökat spektrum (andra-, tredje- och fjärde generationen), men idag används ofta en bredare definition (Giske *et al.*, 2009). För att β -laktamaserna ska räknas som ”extended-spectrum β -lactamases” (ESBL) ska de kunna bryta ned flera antibiotikagrupper. I de flesta fall finns resistens mot penicilliner, första-, andra- och tredje generationens cefalosporiner och monobaktamer. ESBL-producerande bakterier är för det mesta fortfarande känsliga mot cephamyciner, karbapenemer och kan inhiberas av klavulansyra (Paterson & Bonomo, 2005).

De bakterier som framför allt producerar ESBL tillhör familjen *Enterobacteriaceae*, särskilt *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. och *Klebsiella pneumoniae* (Li *et al.*, 2007). *Enterobacteriaceae* är en familj med gramnegativa stavformade bakterier, och är vanligt förekommande i den normala tarmfloran. *E. coli* och *Salmonella* är båda viktiga och vanliga patogener hos djur och människor. *E. coli* kan orsaka en mängd infektioner, dels som opportunist (till exempel mastiter och urinvägsinfektioner), men det finns även mer virulenta stammar (till exempel ETEC, STEC) som orsakar allvarlig diarrésjukdom och toxinemi. Salmonellos är en vanligt förekommande sjukdom hos såväl djur som människor, både som enterisk och septikemisk typ. *Klebsiella pneumoniae* är en opportunistisk patogen som kan orsaka mastit, metriter och urinvägsinfektioner (Quinn *et al.*, 2011). Andra gramnegativa bakterier kan också producera ESBL. β -laktamresistens förekommer även sporadiskt hos grampositiva bakterier och har rapporterats på bland annat *Staphylococcus aureus* från djur (Li *et al.*, 2007).

Typer av ESBL

ESBL kan delas in på flera olika sätt baserat på struktur eller funktion (Paterson & Bonomo, 2005). En ny, förenklad nomenklatur föreslogs av Giske *et al.* (2009) med indelning i tre olika övergrupper: ESBL_A, ESBL_M och ESBL_{CARBA}. För människa är det anmälningspliktigt för fynd av *Enterobacteriaceae* som producerar någon av de tre ESBL-typerna (SFS 2004:255). Fynd av *Enterobacteriaceae* som producerar ESBL_{CARBA} är anmälningspliktigt hos djur i Sverige (SJVFS 2013:23), men inte någon av de andra ESBL-typerna.

ESBL_A

ESBL_A är en grupp som innehåller det som brukar kallas ”klassiska ESBL”. De saknar känslighet för cefalosporiner med utökat spektrum, men kan inhiberas av klavulansyra. Denna grupp kan sedan delas in i flera subgrupper (Giske *et al.*, 2009). Vanliga subgrupper är SHV och TEM, vilka normalt sett är β -laktamaser med ett smalt spektrum men som kan utveckla en ESBL-fenotyp efter små förändringar i aminosyrasekvensen. SHV produceras vanligen av *Klebsiella pneumoniae*, men ESBL av SHV-typ har isolerats från *Enterobacteriaceae* och *Pseudomonas aeruginosa*. Över 100 olika TEM-typer har beskrivits, och de har bland annat funnits hos *Escherichia coli* och *Klebsiella pneumoniae* (Paterson & Bonomo, 2005).

Idag är dock den vanligaste subgruppen CTX-M, som isolerats på samtliga befolkade kontinenter. CTX-M-1 är den vanligast förekommande typen av ESBL hos svenska kycklingar (Swedres-Svarm, 2017). Dessa har ett naturligt brett spektrum till skillnad från TEM och SHV (Paterson & Bonomo, 2005).

ESBL_M

ESBL_M har också nedsatt känslighet för cefalosporiner med utökat spektrum. I denna övergrupp finns subgrupperna OXA och AmpC. Dessa typer av ESBL kan upptäckas med hjälp av genotypiska och fenotypiska metoder (Giske *et al.*, 2009).

OXA brukar inte klassas som ESBL, då de normalt inte hydrolyserar cefalosporiner med utökat spektrum. Det finns dock en del OXA-typer som kan göra det. OXA-enzymerna finns framför allt hos *Pseudomonas aeruginosa*, men även hos *Escherichia coli*. (Paterson & Bonomo, 2005).

Plasmidmedierade och kromosomala AmpC (pAmpC och cAmpC) brukar i många klassificeringar räknas som en egen grupp separerad från det som traditionellt kallas ESBL. Bakterier som producerar dessa β -laktamaser är ofta resistenta mot tredje generationens cefalosporiner och β -laktamantibiotika i kombination med klavulansyra, men är känsliga mot karbapenemer och i vissa fall även fjärde generationens cefalosporiner. pAmpC har visat sig kunna spridas horisontellt mellan olika bakterier i familjen *Enterobacteriaceae*. Inom AmpC finns flera olika mindre grupper av enzymer, där den vanligaste är CMY (Seiffert *et al.*, 2013).

ESBL_{CARBA}

ESBL_{CARBA} inkluderar de β -laktamaser som förutom resistens mot cefalosporiner även är resistenta mot karbapenemer. Denna grupp är i de flesta fall resistent mot all β -laktamantibiotika. Även den här övergruppen kan delas in i flera subgrupper (Giske *et al.*, 2009). ESBL_{CARBA} har hittats hos bland annat *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp. och *Acinetobacter* spp. (Seiffert *et al.*, 2013).

ESBL_{CARBA} upptäcktes relativt sent hos djur, men har rapporterats bland annat från kor i Frankrike (Poirel *et al.*, 2012). Fynd av ESBL_{CARBA} har gjorts från kyckling och kycklingkött i Cypern och Rumänien (EFSA & ECDC, 2018), och från grisar i Belgien och Tyskland (EFSA & ECDC, 2017). ESBL_{CARBA} har ännu inte beskrivits hos djur i Sverige, men det upptäckts allt fler inhemska humanfall (Swedres-Svarm, 2017).

Riskfaktorer för spridning av ESBL

Antibiotikabehandling

Behandling med antibiotika innebär alltid en risk för att sprida antibiotikaresistens. Genom att använda cefalosporiner med utökat spektrum selekteras bakterier som är resistenta mot denna typ av behandling, d.v.s. ESBL, fram (EFSA BIOHAZ, 2011). Användning av cefalosporiner benämns som en betydande riskfaktor i flera studier. En stark korrelation mellan användning av cefalosporiner och förekomst av ESBL-producerande bakterier påvisades hos grisbesättningar i Nederländerna (Dohmen *et al.*, 2017). Liknande resultat presenterades av Snow *et al.* (2012) och Gonggrijp *et al.* (2016) gällande mjölkkor, där behandling med tredje och fjärde generationens cefalosporiner gav högre risk för att besättningen skulle vara positiv för ESBL. I en annan studie jämfördes förekomsten av ESBL hos kor på en konventionell mjölkgård med förekomsten hos kor på en ekologisk gård. I den konventionella besättningen användes höga koncentrationer av cefalosporiner, både via parenteral och intramammär administreringsväg. Även denna studie indikerade en högre förekomst av ESBL-producerande bakterier på den gård som regelbundet administrerar cefalosporiner till sina kor (Dolejska *et al.*, 2011). Cefalosporiner används framför allt vid behandling av mastit hos mjölkkor i många EU-länder. Intramammär administrering anses ge lägre risk för resistensutveckling, då en mindre andel av läkemedlet påverkar djurets normalflora. En riskfaktor är dock om mjölk från behandlade kor ges till kalvar i besättningen. Användningen av cefalosporiner varierar mycket mellan olika länder inom EU (EFSA BIOHAZ 2011).

Att behandla med penicillin kan tänkas som en riskfaktor för att ESBL-resistens ska uppkomma eller utvecklas. Att behandla kycklingar med aminopenicillin eller andra penicillintyper kan möjligen påverka resistensläget kring ESBL i besättningen, men resultaten är osäkra (Dierikx *et al.*, 2013; Agersø *et al.*, 2014). Andra studier har inte kunnat se något samband mellan penicillinbehandling och ökad förekomst av ESBL (Snow *et al.*, 2012; Gonggrijp *et al.*, 2016).

Användning av annan antibiotika än β -laktamantibiotika har också föreslagits kunna påverka uppkomst och spridning av ESBL (EFSA BIOHAZ, 2011). I Sverige är det vanligt att ESBL-producerande bakterier hos djur resistenta mot β -laktamantibiotika, även bär på resistensgener mot andra typer av antibiotika som sulfonamider och tetracykliner (Swedres-Svarm, 2017). Studier gjorda i andra länder har också påvisat resistensgener mot andra antibiotikagrupper hos de ESBL-producerande bakterierna (Dolejska *et al.*, 2011; Dierikx *et al.*, 2013). Att ESBL-producerande bakterier har multiresistensgener torde innebära att även användning av andra

antibiotikagrupper än β -laktamantibiotika kan ge en selektion för resistens när väl ESBL introducerats i besättningen (EFSA BIOHAZ, 2011).

Det råder dock aningen delade meningar kring huruvida en allmänt minskad antibiotikaanvändning (en minskning av annan antibiotika än β -laktamantibiotika) skulle påverka förekomsten av ESBL. Inget statistiskt signifikant samband mellan en allmänt låg antibiotikaanvändning och låg ESBL-förekomst sågs i studien av Dohmen *et al.* (2017). Vid jämförelse av två olika kycklingflockar, där den ena flocken behandlades med antibiotika (ej cefalosporiner) kunde det inte påvisas någon skillnad i ESBL-förekomst hos den antibiotikabehandlade och den obehandlade flocken. Antibiotikabehandling med annan antibiotika än cefalosporiner verkade inte ge någon co-selektion för ESBL (Hiroi *et al.*, 2012).

Vertikal smittspridning

Vertikal smittspridning av ESBL-producerande bakterier är en möjlig spridningsväg hos kyckling. Aveln med kyckling kan beskrivas som en pyramid. I toppen finns de så kallade elitdjuren, vilka föds upp av multinationella företag. Två av dessa företag producerar kycklingar till 85 % av den europeiska marknaden. Företagen föder upp olika avelslinjer som sedan importeras som andra generationens föräldradjur ("grandparents" – GP) till olika länder, däribland Sverige (EFSA BIOHAZ, 2011).

Användning av antibiotika, särskilt cefalosporiner, är en riskfaktor för att ESBL-bildande bakterier ska uppstå. I Sverige, och i många andra länder, används sällan antibiotikabehandling till kyckling (endast 0,4 % av de svenska kycklingflockarna behandlades med antibiotika 2016) och under svenska förhållanden ges aldrig cefalosporiner. Trots detta är förekomsten av ESBL relativt hög, 42 % (Swedres-Svarm, 2017). En möjlig förklaring till detta är att importerade föräldradjur bär med sig ESBL-bildande bakterier som sedan sprids vertikalt i produktionskedjan. Vid undersökning av ESBL-förekomsten hos de importerade föräldradjuren från Storbritannien i samband med ankomsten till Sverige var sex av åtta flockar positiva för *Escherichia coli* med gener för *bla*_{CMY-2} (ESBL_M). Dessa djur och deras avkommor följdes sedan vertikalt i avelspyramiden med hjälp av sockprov fram till att kycklingarna skickades till slakt. Samma typ av bakterier som hittats hos de importerade föräldradjuren kunde senare isoleras från kycklingflockarna, vilket indikerar en vertikal spridning trots att det saknas selektivt tryck från antibiotika (Nilsson *et al.*, 2014).

Även i Danmark observerades en spridningsrisk från de importerade föräldradjuren till kycklingnivå och kycklingkött, trots att ingen eller mycket lite antibiotika använts i kedjan sedan djuren importerats (Agersø *et al.*, 2014). En nederländsk studie som tittat på förekomsten av ESBL- eller AmpC-producerande *E. coli* vid olika steg i produktionskedjan konstaterade att förekomsten är hög redan hos de importerade föräldradjuren och sedan minskar något ner mot botten av produktionspyramiden där kycklingarna finns. Detta kunde dock påverkas av andra faktorer, eftersom vissa andra typer av ESBL-gener också sågs hos kycklingar jämfört med föräldradjuren, vilket indikerar även en horisontell smittspridning (Dierikx *et al.*, 2013).

Det saknas tillräckliga bevis på att äkta vertikal smittspridning, det vill säga direkt från höna till kyckling via ägget, sker inom genus *Escherichia* (det är dock en möjlighet för spridning av *Salmonella* spp.). Istället föreslås en pseudo-vertikal överföring via äggskalerna från föräldraflockarna in till kläckningsanläggningen. Det har också påvisats att miljön i kläckningsanläggningarna redan är kontaminerad med ESBL-producerande bakterier vid kläckningen, så horisontell överföring från miljön till de nykläckta kycklingarna är en annan möjlig smittkälla (Projahn *et al.*, 2017).

Foder

Utfodring med vissa mineraler har visat sig ha ett samband med förekomsten av ESBL. Mineralfoder innehållande zink och koppar ges ibland till i en koncentration som överskrider det nutritionella behovet till livsmedelsproducerande djur som grisar och fjäderfän. Syftet är att som ett alternativ till antibiotika i fodret skydda mot diarrésjukdomar. Co-resistens har observerats mot dessa metaller och antibiotika, varvid tillskott av zink och koppar kan öka förekomsten av antibiotikaresistens. Utfodring med dessa spårämnen har visat sig kunna öka andelen multiresistenta *E. coli* i mag-tarmkanalen hos djuren (Yazdankhah *et al.*, 2014), och i grisavföring där det påvisats en hög zink- och kopparförekomst har det även funnits en hög förekomst av *E. coli* resistent mot β -laktamantibiotika (Hölzel *et al.*, 2012).

Foder har inte påvisats som en trolig spridningsväg för ESBL. Foderprover tagna i ett konventionellt kycklingstall visade efter en vecka kontamination med ESBL-producerande bakterier, men det var troligen en effekt av att kycklingarna spridit bakterier till fodret, inte tvärtom. Prover tagna från samma batch innan kycklingarna flyttat in var samtliga negativa för ESBL (Dierikx *et al.*, 2013).

Inhysnings- och skötsselfaktorer

I flera studier har ESBL/AmpC-producerande bakterier påvisats i kycklingstallets miljö innan djuren har flyttat in (Dierikx *et al.*, 2013; Huijbers *et al.*, 2016). ESBL-producerande bakterier kunde påvisas i ett av sju kycklingstall efter desinfektion och rengöring, och samma genotyp kunde sedan identifieras hos de kycklingar som flyttat in, varvid en kontaminerad stallmiljö är en möjlig spridningsväg för kycklingar (Daehre *et al.*, 2017). När två olika flockar, varav den ena antibiotikabehandlades, placerades i rengjorda och desinficerade stall kunde det efter 49 dagar isoleras ESBL-producerande *E. coli* från båda flockarna. I stallen hade det tidigare funnits ESBL-positiva kycklingar. I samma studie placerades även en kycklingflock i en laboratoriemiljö där det aldrig tidigare funnits kycklingar, och från denna flock kunde det inte påvisas ESBL-producerande *E. coli* trots att flocken behandlades med antibiotika, vilket indikerar att miljön har en viktig roll i spridningen av ESBL (Hiroi *et al.*, 2012). Mo *et al.* (2016) konstaterade att en av de viktigaste riskfaktorerna för att en kycklingflock ska bära ESBL-smitta är om föregående flock i samma hus var ESBL-positiv.

ESBL-producerande bakterier kan spridas till kycklingar via miljön i kläckeriet eller via transporter till och från kläckeriet. Bakterierna är resistent i miljön, troligen på grund av deras förmåga att bilda biofilm och det höga antalet adherensgener som påvisats hos denna typ av bakterier (Projahn *et al.*, 2018). ESBL-producerande bakterier har också kunnat påvisas utanför kycklingstall kring ventilationsrören, något som tyder på en luftburen smitta och möjliggör recirkulering av smitta på gården även efter rengöring (Daehre *et al.*, 2017).

Kycklingar som hållits i en miljö där inte ESBL påvisats innan ankomsten och som inte behandlats med antibiotika kan ändå ha en hög förekomst av ESBL (Daehre *et al.*, 2017). Andra riskfaktorer som identifierats hos kycklingstallar där djuren inte behandlats med antibiotika är att inte alltid desinficera golvet i husen mellan produktionsomgångarna, att transportpersonal eller andra typer av besökare gått in till kycklingarna, samt att kycklingarna levereras från två eller fler olika föräldraflockar (Mo *et al.*, 2016).

Mjölkkor har andra riskfaktorer jämfört med kyckling när det gäller förekomst av ESBL-producerande bakterier, såsom inköp av nya djur till besättningen och att inte hålla nyinköpta individer i karantän (Snow *et al.*, 2012). Regelbunden rengöring och desinfektion av den utrustning som användes för att ge kalvarna mat var en skyddande faktor. Förvaring av gödsel anses påverka ESBL-förekomsten, där förvaring i ett öppet utrymme var en större risk än förvaring i ett stängt utrymme (Snow *et al.*, 2012). Andra riskfaktorer för förekomst av ESBL-producerande bakterier är att behandla samtliga fall av klinisk mastit med antibiotika, att en hög andel av kalvarna behandlas med antibiotika och att inte använda spendesinfektion efter mjölkning (Gonggrijp *et al.*, 2016). Faktorer associerade med en mindre intensiv produktion, såsom egen foderproduktion och att det finns ordentliga hygienåtgärder (till exempel gällande utgödslingsrutiner) sågs ge en minskad risk för cefotaxim-resistenta *E. coli*. (resistenta mot tredje generationens cefalosporiner). Liknande resultat sågs även för kor som hölls för nötköttsproduktion, där variabler som endast ett stall på gården (indikerar få djur), tillväxtperiod > 18 månader och användandet av flugfällor minskade risken för antibiotikaresistenta *E. coli* (Hille *et al.*, 2017).

Epidemiologin kring ESBL har undersökts på en konventionell mjölkgård i England, där ESBL tidigare påvisats. I denna studie påvisades en ökning av antalet ESBL-positiva kor efter kalvning jämfört med innan kalvning. Kalvningsboxen pekades ut som en möjlig reservoar för antibiotikaresistenta bakterier, då ESBL-producerande bakterier påvisades i miljöprover. Kalvarna som fötts i dessa boxar hade också en hög prevalens av ESBL. Kor som kalvat två eller fler gånger visade sig bära på ESBL mer frekvent än förstagångskalvare. Prevalensen var också högre bland de högproducerande mjölkorna i laktation jämfört med kvigor och sinkor (Watson *et al.*, 2012).

För grisbesättningar har vatten från en privat källa, avsaknad av hygienspär vid ingång till stallet och frånvaro av professionell skadedjursbekämpning påvisats som riskfaktorer. En viss trend sågs även för intransport av gyltor från en annan besättning och tandklippning hos smågrisar, men dessa resultat var inte statistiskt signifikanta (Dohmen *et al.*, 2017).

Flugor kan vara en möjlig vektor för spridning av ESBL-producerande bakterier, då den typen av bakterier kunde isoleras från flugor infångade på kycklinggårdar (Blaak *et al.*, 2014). Efter genotypning kunde det konstateras att samma typer av ESBL som flugorna bar på fanns i gödseln från kycklingarna och vatten på den aktuella gården, något som indikerar att flugorna kan fungera som en spridningsväg till kycklingarna (Blaak *et al.*, 2014). Samma genotyp av ESBL har påvisats från flugor och kogödsel från samma besättning (Usui *et al.*, 2013), vilket ytterligare stärker flugornas eventuella roll som vektorer för ESBL.

Ekologisk produktion

Inom EU finns särskilda regler kring antibiotikaanvändningen på ekologiska gårdar. På ekologiska gårdar får till exempel antibiotika inte användas i förebyggande syfte och varje djur får behandlas med antibiotika max tre gånger per år. Det är inte heller tillåtet att använda koccidiostatika ((EG) nr 889/2008).

När en konventionell och en ekologisk mjölkgård jämfördes i Tjeckien upptäcktes det att den konventionella gården hade en mycket högre prevalens av ESBL-bildande bakterier. Detta kopplades framför allt till den mycket mer utbredda cefalosporinbehandling som skedde på den konventionella gården (Dolejska *et al.*, 2011).

På ekologiska mjölkgårdar i Nederländerna undersöktes prevalensen av ESBL-producerande bakterier, vilken beräknades till 13 % hos de undersökta gårdarna (Santman-Berends *et al.*, 2017). På konventionella mjölkgårdar i Nederländerna har en förekomst på 41 % påvisats (Gonggrijp *et al.*, 2016). Gällande riskfaktorer kunde inget samband påvisas mellan användandet av tredje- och fjärde generationens cefalosporiner och ESBL-förekomst, eller användning av någon annan typ av antibiotika i de ekologiska besättningarna. Däremot kunde följande riskfaktorer identifieras: att mjölkgården låg inom 2 km radie från en grisgård (ESBL-förekomsten på grisgårdarna undersöktes inte i studien), parenteral administrering av läkemedel för att behandla klinisk mastit och att kvigkalvar utfodrades med mjölkpulver istället för helmjolk (Santman-Berends *et al.*, 2017).

Vid undersökning av kycklingkött från konventionella besättningar och ekologiska besättningar i Nederländerna kunde förekomst av ESBL-producerande bakterier påvisas i en majoritet av köttet oberoende av produktionsform. Både prevalensen av ESBL och vilka typer av ESBL som fanns var liknande oavsett om kycklingen kom från en konventionell eller ekologisk besättning (Stuart *et al.*, 2012).

Förebyggande åtgärder

Minskad antibiotikaanvändning hos livsmedelsproducerande djur anses vara en av de viktigaste åtgärderna för att minska antibiotikaresistensen. Detta gäller även för ESBL (EFSA BIOHAZ 2011, O'Neill 2016), och då särskilt användningen av tredje och fjärde generationens

cefalosporiner. (EFSA BIOHAZ, 2011; Dolejska *et al.*, 2011; Snow *et al.*, 2012; Gonggrijp *et al.*, 2016; Dohmen *et al.*, 2017). Det finns redan svenska föreskrifter som reducerar användningen av cefalosporiner av tredje och fjärde generationen. Enligt dessa får cefalosporiner med utökat spektrum endast ges till djur ”när mikrobiologisk undersökning och resistensbestämning visar att verksamt alternativ saknas” (SJVFS 2017:17, 2 kap. 11§).

Inom EU övervakas antibiotikaresistens, däribland ESBL, och rapporteras centralt. Detta görs för livsmedelsproducerande djur och köttet från de djuren på ett sätt beskrivet i Kommissionens genomförandebeslut 2013/652/EU (EFSA & ECDC, 2018). Nationell övervakning finns också i ett flertal länder, bland annat i Sverige (Swedres-Svarm, 2017).

Probiotika

I Finland har nykläckta kycklingar under lång tid behandlats med probiotika i form av bakterieflora isolerad från blindtarmen hos vuxna höns. Denna metod kallas för ”competitive exclusion” (CE) och en kommersiell produkt vid namn Broilact® har utvecklats. Kycklingar behandlade med detta preparat visade sig ha signifikant mindre kolonisation av ESBL-producerande *E. coli* i tarmen jämfört med kontrollgruppen (Nuotio *et al.*, 2013). Förekomsten av ESBL är lägre i Finland, där ESBL påvisades i 7 % av tarmproverna från kyckling 2014 (Evira, 2017), jämfört med Sverige där förekomsten i tarmprover från kyckling var 42 % 2016 (Swedres-Svarm, 2017). Produktionssystemen är mycket lika i de båda länderna, förutom gällande användning av probiotika.

Även en annan probiotikaprodukt som verkar via CE, Aviguard®, visade på en minskad spridning av ESBL-producerande bakterier hos kycklingar som behandlats med detta preparat. Det sågs även en minskad exkretion av bakterier hos de kycklingar som behandlats med probiotika, vilket ytterligare minskar smittrycket (Ceccarelli *et al.*, 2017).

DISKUSSION

Denna litteraturstudie har fokuserat på vilka riskfaktorer som finns för uppkomst och spridning av ESBL-producerande bakterier hos kyckling, nöt och gris, samt vilka förebyggande åtgärder som kan tillämpas för att minska ESBL-förekomsten på dessa tre djurslag. Syftet med arbetet har varit att hitta sätt för att kunna minska förekomsten av ESBL-producerande bakterier hos livsmedelsproducerande djur.

En ökande antibiotikaresistens bland bakterier och hög prevalens av ESBL bland livsmedelsproducerande djur är ett problem. Behandling med antibiotika är som tidigare påpekats en av de största riskfaktorerna för utveckling av resistenta bakterier och för ESBL gäller det speciellt användningen av tredje och fjärde generationens cefalosporiner (EFSA BIOHAZ, 2011; O’Neill, 2016). För att arbeta förebyggande mot ESBL kan det konstateras att det är av yttersta vikt att användning av denna antibiotikatyp endast sker efter noga övervägande

och inte slentrianmässigt. Ett sätt att uppnå det skulle kunna vara att införa ny lagstiftning på EU-nivå, motsvarande den som redan idag finns i Sverige. En lagstiftning skulle förhindra förebyggande behandling med cefalosporiner och även stärka cefalosporinernas status som "ett sista alternativ", vilket kan vara ett sätt att minska användningen av läkemedlet och selektionen för resistens.

Flera länder som har en låg antibiotikaanvändning rapporterar en hög förekomst av ESBL, och enligt Dohmen *et al.* (2017) kunde inget samband mellan användning av annan antibiotika än β -laktamantibiotika och ESBL-förekomst påvisas. Fler studier som undersöker detta vore intressant för att få en uppfattning hur mycket en minskad antibiotikaanvändning generellt skulle påverka ESBL-förekomsten. Det bör dock påpekas att för det generella resistensläget kring samtliga antibiotikaresistenta bakterier är en minskad antibiotikaanvändning av yttersta vikt för både djur och människor (EFSA BIOHAZ, 2011; WHO, 2017). Både inom och utanför EU finns väldigt olika attityder och lagstiftning kring användningen av antibiotika, och det skulle vara önskvärt att harmonisera detta så att en restriktiv antibiotikaanvändning blir standard i ett försök att stoppa resistensutvecklingen.

I Sverige används inte behandling med cefalosporiner till kyckling, men det kan förekomma för gris och nöt. Trots detta är förekomsten av ESBL högre hos kyckling (Swedres-Svarm, 2017). Detta indikerar att det finns andra faktorer som påverkar ESBL-resistensen, och att enbart minska behandlingen med cefalosporiner inte är den enda åtgärden som krävs för att komma till rätta med problemet. För kyckling anses det att ESBL överförs via avelspyramiden och kan introduceras till den nationella produktionen via den globala distributionen av föräldradjur (Dierikx *et al.*, 2013; Nilsson *et al.*, 2014). ESBL-bakterier kan sedan passera genom produktionskedjan ända ned till kycklingköttet som en möjlig smittväg för människor. Ytterligare undersökningar och studier kring förekomsten och spridning av ESBL borde genomföras bland elitdjursföretagen för att få mer insikt i problemet, och för att fastställa ESBL-statusen bland dessa djur. Ett annat problem att fokusera på är de kycklingstall där det hittats ESBL trots rengöring. Det indikeras starkt att de rengörings- och desinfektionsrutiner som tillämpas mellan varje kycklingomgång inte är tillräckliga, trots att de flesta kycklinggårdar idag tillämpar en "all-in, all-out"-princip, där tomtid och rengöring sker mellan varje omgång. Fler studier bör genomföras för att fastställa optimala rengöringsrutiner. Användningen av probiotika kan vara ett alternativ, men fler studier är dock nödvändiga hos bland annat svenska kycklingar för att eventuellt kunna minska ESBL-förekomsten.

Djurhållningen av mjölkkor skiljer sig från kycklingar vilket innebär att de har andra riskfaktorer. Mjolkproduktionen är mer varierad än både gris- och kycklingproduktionen; det finns stora skillnader i besättningsstorlek, mjölkningssystem, inhysning, rutiner kring betesgång etc. Detta kan vara en av anledningarna till att många olika riskfaktorer kunde identifieras i studierna. I studien av Hille *et al.* (2017) undersöktes mjölkkobesättningar vars besättningsstorlek varierade mellan 8 och 1300 kor. Det är troligt att produktionsformen mellan gårdarna skiljde sig kraftigt, varvid de riskfaktorer som identifierades inte är fullt tillförlitliga för samtliga mjölkkobesättningar.

För både kor och grisar har mindre och väldigt olika skötselåtgärder identifierats som riskfaktorer, såsom att inte använda spendesinfektion efter mjölkning, att behandla samtliga fall av klinisk mastit med antibiotika i besättningen (Gonggrijp *et al.*, 2016) och att hygienspärn in till grisbesättningen saknas (Dohmen *et al.*, 2017). Det saknas dock mer omfattande åtgärder, förutom minskad behandling med cefalosporiner, för att minska ESBL-förekomsten. ESBL är ännu inte ett lika stort problem för dessa djurslag som för kyckling, och det finns relativt få studier som fokuserat på riskfaktorer för kor och grisar. Förekomsten är dock ökande (EFSA & ECDC, 2017), så att arbeta förebyggande är en bra strategi för att förhindra att ett större problem uppstår. Kanske kan det vara en idé för framtida studier att fokusera på riskfaktorer för specifika typer av besättningar, till exempel mjölkbesättningar med robot eller grisbesättningar med enbart slaktgrisuppfödning, för att kunna ge rekommendationer vad dessa kan tänka på för att förebygga ESBL.

En av anledningarna till att ekologiska gårdar undersökts specifikt är troligen att de har en mer restriktiv antibiotikaanvändning än konventionella gårdar i EU. Studierna utförda på ekologiska mjölkgårdar visar en mindre prevalens av ESBL jämfört med konventionella gårdar (Dolejska *et al.*, 2011, Santman-Berends *et al.*, 2017), men gällande kycklingkött sågs dock ingen skillnad mellan konventionellt och ekologiskt (Stuart *et al.*, 2012). En anledning till att ingen skillnad ses på kycklingköttet skulle kunna vara om ekologiska kycklingar inte slaktas separat och att det sker kontamination på slakteriet eller styckningsanläggningen. En intressant iakttagelse var att det i studien av Santman-Berends *et al.* (2017) inte påvisades något samband mellan användandet av tredje och fjärde generationens cefalosporiner och förekomsten av ESBL på ekologiska mjölkgårdar, något som pekats ut för konventionella mjölkgårdar (Gonggrijp *et al.*, 2016). Denna skillnad kan eventuellt bero på att ekologiska besättningar inte använder särskilt mycket cefalosporiner, och att restriktiv användning i en så låg nivå inte påverkar resistensutvecklingen positivt. Om detta stämmer kan det tänkas att ett totalt stopp av användningen av cefalosporiner till livsmedelsproducerande djur inte är nödvändigt för att stoppa ESBL, utan endast en restriktiv användning kan vara en tillräckligt förebyggande åtgärd.

De riskfaktorer för spridning och utveckling av ESBL-producerande bakterier som lyfts fram i detta arbete kan sammanfattas som användningen av cefalosporiner med utökat spektrum, dåliga hygien- och skötselrutiner, samt spridning i samband med förflyttning av djur. För att förebygga ESBL-förekomst borde användandet av cefalosporiner minska. Ytterligare forskning bör genomföras kring rengöringsrutiner mellan omgångar av kycklingar, hur ESBL-förekomsten i kycklingarnas avelspyramid kan reduceras och huruvida användandet av probiotika är en möjlig framtida väg mot minskad ESBL-förekomst. Att mjölkgårdar och grisgårdar fortsätter arbeta mot högre biosäkerhet får också ses som en viktig förebyggande åtgärd; hur detta bäst uppnås bör framtida studier fokusera på. Det är nödvändigt att det snabbt arbetas fram strategier för att hindra och vända den utveckling som ESBL-resistensen för närvarande har, och att börja detta arbete redan på besättningsnivå kan leda till en stor skillnad.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Agersø, Y., Jensen, J.D., Hasman, H., Pedersen, K. (2014) Spread of Extended Spectrum Cephalosporinase-Producing *Escherichia coli* Clones and Plasmids from Parent Animals to Broilers and to Broiler Meat in a Production Without Use of Cephalosporins. *Foodborne Pathogens and Disease*, 11(9):740-746
- Blaak H., Hamidjaja R.A., van Hoek A.H.A.M., de Heer L., de Roda A.M.H., Schets F.M. (2014) Detection of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* on flies at poultry farms. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(1):239-246
- Ceccarelli D., van Essen-Zandbergen A., Smid B., Veldman K.T., Boender G.J., Fischer E.A.J., Mevius D.J., van der Goot J.A. (2017) Competitive exclusion reduces transmission and excretion of extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* in broilers. *Applied and Environmental Microbiology*, 83:e03439-16 doi: <https://doi.org/10.1128/AEM.03439-16> [2018-02-25]
- Daehre K., Projahn M., Semmler T., Roesler U., Friese A. (2017) Extended-spectrum Beta-Lactamase-/AmpC Beta-Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae* in Broiler Farms: Transmission Dynamics at Farm Level. *Microbial Drug Resistance*. doi: 10.1089/mdr.2017.0150 [2018-02-09]
- Dierikx C.M., van der Goot J.A., Smith H.E., Kant A., Mevius D.J. (2013) Presence of ESBL/AmpC-producing *Escherichia coli* in the broiler production pyramid: a descriptive study. *PLoS ONE*, 8(11):p.e79005 [2018-02-17]
- Dohmen W., Dorado-García A., Bonten M.J.M., Wagenaar J.A., Mevius D., Heederik D.J.J. (2017) Risk factors for ESBL-producing *Escherichia coli* on pig farms: A longitudinal study in the context of reduced use of antimicrobials. *PLoS ONE*, 12(3):e0174094 doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174094> [2018-02-04]
- Dolejska M., Jurcickova Z., Literak I., Pokludova L., Bures J., Hera A., Kohoutova L., Smola J., Cizek A. (2011) IncN plasmids carrying *bla*_{CTX-M-1} in *Escherichia coli* isolates on a dairy farm. *Veterinary Microbiology*, 149(3-4):513-516
- EFSA Panel on Biological Hazard (BIOHAZ) (2011) Scientific Opinion on the public health risks of bacterial strains producing extended-spectrum β -lactamases and/or AmpC β -lactamases in food and food-producing animals. *EFSA Journal* 9(8):2322 doi: 10.2903/j.efsa.2011.2322 [2018-02-17]
- EFSA, ECDC (2017) The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2015. *EFSA Journal*, 15(2):4694. doi: 10.2903/j.efsa.2017.4694 [2018-02-28]
- EFSA, ECDC (2018) The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2016. *EFSA Journal*, 16(2):5182 doi: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5182> [2018-02-28]
- Evira (2017) *FINRES-Vet 2013–2015, Finnish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring and Consumption of Antimicrobial Agents*. Helsingfors. ISBN: 978-952-225-165-7. Tillgänglig: https://www.evira.fi/globalassets/tietoa-evirasta/julkaisut/julkaisusarjat/elaimet/evira_publications_5_2017_finres_vet_2013_2015_171117.pdf [2018-03-11]

- Giske C.G., Sundsfjord A.S., Kahlmeter G., Woodford N., Nordmann P., Paterson D.L., Cantón R., Walsh T.R. (2009) Redefining extended-spectrum β -lactamases: balancing science and clinical need. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 63(1):1-4.
- Gonggrijp M.A., Santman-Berends I.M.G.A., Heuvelink A.E., Buter G.J., van Schaik G., Hage J.J., Lam T.J.G.M. (2016) Prevalence and risk factors for extended-spectrum β -lactamase- and AmpC-producing *Escherichia coli* in dairy farms. *Journal of Dairy Science*, 99(11):9001-9013
- Hille K., Ruddat I., Schmid A., Hering J., Hartmann M., von Münchhausen C., Schneider B., Messelhäusser U., Friese A., Mansfeld R., Käsbohrer A., Hörmansdorfer S., Roesler U., Kreienbrock L. (2017) Cefotaxime-resistant *E. coli* in dairy and beef cattle farms – Joint analyses of two cross-sectional investigations in Germany. *Preventive Veterinary Medicine*, 142:39-45
- Hiroi M., Matsui S., Kubo R., Iida N., Noda Y., Kanda T., Sugiyama K., Hara-Kudo Y., Ohashi N. (2012) Factors for Occurrence of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* in broilers. *Journal of Veterinary Medical Science*, 74(12):1635-1637
- Huijbers P.M.C., Graat E.A.M., van Hoek A.H.A.M., Veenman C., de Jong M.C.M., van Duijkeren E. (2016) Transmission dynamics of extended spectrum β -lactamase and AmpC β -lactamase-producing *Escherichia coli* in a broiler flock without antibiotic use. *Preventive Veterinary Medicine*, 131:12-19
- Hölzel C.S., Müller C., Harms K.S., Mikolajewski S., Schäfer S., Schwaiger K., Bauer J. (2012) Heavy metals in liquid pig manure in light of bacterial antimicrobial resistance. *Environmental Research*, 113:21-27
- Kommissionens förordning (EG) nr 889/2005 av den 5 september 2008 om tillämpningsföreskrifter för rådets förordning (EG) nr 834/2007 om ekologisk produktion och märkning av ekologiska produkter med avseende på ekologisk produktion, märkning och kontroll. (EUT L 250, 18.9.2008, s.1-84)
- Li, X-Z., Mehrotra, M., Ghimire, S., Adewoye L. (2007) β -lactam resistance and β -lactamases in bacteria of animal origin. *Veterinary Microbiology*, 121(3):197-214
- Mo S.S., Kristoffersen A.B., Sunde M., Nødtvedt A., Norström M. (2016) Risk factors for occurrence of cephalosporin-resistant *Escherichia coli* in Norwegian broiler flocks. *Preventive Veterinary Medicine*, 130:112-118
- Nilsson O., Börjesson S., Landén A., Bengtsson B. (2014) Vertical transmission of *Escherichia coli* carrying plasmid-mediated AmpC (pAmpC) through the broiler production pyramid. *Journal of Antimicrobial Therapy*, 69(6):1497-1500
- Nuotio L., Schneitz C., Nilsson O. (2013) Effect of competitive exclusion in reducing the occurrence of *Escherichia coli* producing extended-spectrum β -lactamases in the ceca of broiler chicks. *Poultry Science*, 92(1):250-254
- O'Neill, J. (red) (2016) *Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations*. London. Tillgänglig:
https://amr-review.org/sites/default/files/160525_Final%20paper_with%20cover.pdf
 [2018-02-08]
- Paterson D.L., Bonomo R.A. (2005) Extended-Spectrum β -Lactamases: a Clinical Update. *Microbiology reviews*, 18(4): 657-686

- Poirel L., Berçot B., Millemann Y., Bonnin R.A., Pannaux G., Nordmann P. (2012) Carbapenemase-producing *Acinetobacter* spp. in cattle, France. *Emerging Infectious Diseases*, 18(3):523-525.
- Projahn M., Daehre K., Roesler U., Friese A. (2017) Extended-spectrum-beta-lactamase and plasmid-encoded cephamycinase-producing enterobacteria in the broiler hatchery as a potential mode of pseudo-vertical transmission. *Applied and Environmental Microbiology*, 83(1):e02364-16 doi: <https://doi.org/10.1128/AEM.02364-16> [2018-02-18]
- Projahn M., Daehre K., Semmler T., Guenther S., Roesler U., Friese A. (2018) Environmental adaptation and vertical dissemination of ESBL-/pAmpC-producing *Escherichia coli* in an integrated broiler production chain in the absence of an antibiotic treatment. *Microbial biotechnology*. doi: 10.1111/1751-7915.13040 [2018-02-08]
- Quinn P.J., Markey B.K., Leonard F.C., Fitzpatrick E.S., Fanning S. Hartigan P.J. (2011) *Veterinary Microbiology and Microbial disease*. 2. uppl. Chichester:Wiley-Blackwell.
- Santman-Berends I.M.G.A., Gonggrijp M.A., Hage J.J., Heuvelink A.E., Velthuis A., Lam T.J.G.M., van Schaik G. (2017) Prevalence and risk factors for extended-spectrum β -lactamase or AmpC-producing *Escherichia coli* in organic dairy herds in the Netherlands. *Journal of Dairy Science*, 100(1):562-571
- Seiffert S.N., Hilty M., Perreten V., Endimiani A. (2013) Extended-spectrum cephalosporin-resistant gram-negative organisms in livestock: An emerging problem for human health? *Drug Resistance Updates* 16(1-2):22-45
- SFS 2004:255 *Smittskyddsförordning*. Stockholm: Socialdepartementet
- SJVFS 2013:23 *Anmälningspliktiga djursjukdomar och smittämnen*. Jönköping: Statens jordbruksverk
- SJVFS 2017:17 *Läkemedel och läkemedelsanvändning*. Jönköping: Statens jordbruksverk
- Snow L.C., Warner R.G., Cheney T., Wearing H., Stokes M., Harris K., Teale C.J., Coldham N.G. (2012) Risk factors associated with extended spectrum beta-lactamase *Escherichia coli* (CTX-M) on dairy farms in North West England and North Wales. *Preventive Veterinary Medicine*, 106(3-4):225-234
- Stuart J.C., van Den Munckhof T., Voets G., Scharringa J., Fluit A., Leverstein-Van Hall M. (2012) Comparison of ESBL contamination in organic and conventional retail chicken meat. *International Journal of Food Microbiology*, 154(3):212-214
- Swedres-Svarm (2016) *Swedres-Svarm 2015: Consumption of antibiotics and occurrence of antibiotic resistance in Sweden*. Solna/Uppsala. ISSN 1650-6332.
Tillgänglig:
http://www.sva.se/globalassets/redesign2011/pdf/om_sva/publikationer/swedres_svarm2015.pdf
[2018-03-10]
- Swedres-Svarm (2017) *Swedres-Svarm 2016: Consumption of antibiotics and occurrence of resistance in Sweden*. Solna/Uppsala. ISSN 1650-6332
Tillgänglig:
http://www.sva.se/globalassets/redesign2011/pdf/om_sva/publikationer/swedres_svarm2016.pdf
[2018-02-15]

Usui M., Iwasa T., Fukuda A., Sato T., Okubo T., Tamura Y. (2013) The role of flies in spreading the extended-spectrum β -lactamase gene from cattle. *Microbial Drug Resistance*, 19(5):415-420

Watson E., Jeckel S., Snow L., Stubbs R., Teale C., Wearing H., Horton R., Toszeghy M., Tearne O., Ellis-Iversen J., Coldham N. (2012) Epidemiology of extended spectrum beta-lactamase *E. coli* (CTX-M-15) on a commercial dairy farm. *Veterinary Microbiology*, 154:339-346

WHO (2017) *Critically important antimicrobials for human medicine – 5th rev.* Genève. Tillgänglig: <http://who.int/foodsafety/publications/antimicrobials-fifth/en/> [2018-02-08]

Yazdankhah S., Rudi K., Bernhoft A. (2014) Zinc and copper in animal feed – development of resistance and co-resistance to antimicrobial agents in bacteria of animal origin. *Microbial Ecology in Health & Disease*, 25:25862 doi: <http://dx.doi.org/10.3402/mehd.v25.25862> [2018-02-19]