



Sveriges lantbruksuniversitet  
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

## **Resistensutveckling hos *Staphylococcus pseudintermedius* och förekomst av meticillinresistenta *Staphylococcus pseudintermedius* bland hundar i Europa under en femårsperiod.**

*Erika Kusmin*

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

Alexander Flemings nobeltal, 11 december 1945

---

Självständigt arbete i veterinärmedicin, 15 hp

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2011:20

Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Uppsala 2011

---





Sveriges lantbruksuniversitet  
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

## **Resistensutveckling hos *Staphylococcus pseudintermedius* och förekomst av meticillinresistenta *Staphylococcus pseudintermedius* bland hundar i Europa under en femårsperiod.**

*Staphylococcus pseudintermedius*, development of resistance and prevalence of methicillinresistant *Staphylococcus pseudintermedius* among dogs in Europe during a period of five years

*Erika Kusmin*

**Handledare:**

Mona Fredriksson, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap  
Anna Birgersson, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

**Examinator:**

Mona Fredriksson, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

**Omfattning:** 15 hp

**Kurstitel:** Självständigt arbete i veterinärmedicin

**Kurskod:** EX0700

**Program:** Veterinärprogrammet

**Nivå:** Grund, G2E

**Utgivningsort:** SLU Uppsala

**Utgivningsår:** 2011

**Omslagsbild:** Fleming Alexander

**Serienamn, delnr:** Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr: 2011:20  
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU

**On-line publicering:** <http://epsilon.slu.se>

**Nyckelord:** Meticillinresistent *Staphylococcus pseudintermedius*, *Staphylococcus pseudintermedius*, antibiotikaresistens, klonal diversitet, förekomst, spridning, hund

**Key words:** Methicillin resistant *Staphylococcus pseudintermedius*, *Staphylococcus pseudintermedius*, antibioticresistance, clonal diversity, prevalence, spread, dog



## INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning .....	1
Summary .....	2
Inledning.....	3
Bakgrund .....	3
Material och metoder .....	3
Litteraturoversikt.....	4
Virulens .....	4
Antibiotikaresistens .....	4
Betalaktamasbildning och meticillinresistens .....	4
Överföring av resistensgener.....	5
Resistensmönster och resistensutveckling .....	5
Identifiering av meticillinresistenta <i>S. pseudintermedius</i> .....	5
Förekomst av MRSP .....	6
Klonal diversitet och spridning av kloner .....	6
Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring Programme .....	7
Förekomst av MRSP hos hundar i Europa .....	7
Förekomst av MRSP hos människa .....	8
Diskussion .....	8
Referenser.....	10

## SAMMANFATTNING

*Staphylococcus pseudintermedius* (*S. pseudintermedius*) är en opportunist som ingår i hundars normalflora och den bakterie som oftast orsakar pyodermi hos hund. En alltför frikostig användning av antibiotika inom veterinärmedicinen har selekterat fram nya resistenta bakterier som meticillinresistenta *S. pseudintermedius* (MRSP). Det är en bakterie som i vissa fall visat sig vara resistent mot alla större antibiotikagrupper som används inom veterinärmedicinen. Den här litteraturstudien syftar till att sammanfatta forskning som gjorts kring *S. pseudintermedius* resistensutveckling och hur förekomsten av meticillinresistenta *S. pseudintermedius* förändrats under en femårsperiod. Resistensutvecklingen försvårar behandlingen av infektioner med MRSP och en ökad förekomst är inte bara oroväckande för våra hundar utan även för människor då samma klon av MRSP som identifierats hos hund även setts infektera människa. *S. pseudintermedius* har flera virulensfaktorer och mekanismen bakom resistensutvecklingen är komplex. Resistensgener har förvärvats från andra stafylokocker som exempelvis *S. aureus* och det har visat sig att resistensgener kan överföras mellan antibiotikakänsliga och resistenta stammar. En ökad resistensutveckling hos *S. pseudintermedius* ses i Europa och förekomsten av MRSP hos hund ökar. Under mitten på 2000-talet sågs ingen spridning av kloner mellan länder men idag finns de kloner som tidigare varit begränsade till Sverige och Tyskland, även i resten av världen. Forskningens fokus har de senaste åren lagts på sekvensering av MRSPs genom för att skapa förståelse för mekanismen bakom resistensutvecklingen. Fler studier om den faktiska förekomsten av MRSP i Europa behövs för att få kontroll över spridningen. Djursjukhus och personal bör upprätta hygienrutiner för att minska spridningen av MRSP och kontrollprogram behövs för att öka medvetenheten om MRSP inom veterinärmedicinen och förhoppningsvis minska den frikostiga antibiotikaanvändningen i Europa. Program som Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring Programme (SVARM) bidrar kanske redan idag till att vi ser en minskad ökning av MRSP under 2007-2009 i jämförelse med 2006-2007.

## SUMMARY

*Staphylococcus pseudintermedius* (*S. pseudintermedius*) is an opportunistic commensal of dogs and also the most common pathogen that causes pyoderma in dogs. The last year's profuse use of antibiotics in veterinary medicine is thought to be responsible for the selection of new resistant bacteria as methicillin-resistant *S. pseudintermedius* (MRSP). This bacterium has in some cases been resistant against all the major antibiotic groups used in veterinary medicine. The aim of this literature study was to summarize the research that has been made about *S. pseudintermedius* development of resistance and how the prevalence of methicillin-resistant *S. pseudintermedius* has changed among dogs in Europe over the last five years. The often high resistance of MRSP makes the treatment of infections difficult and an increased prevalence is not just worrying for our dogs, it has been noticed that the same clone of MRSP that infects dogs can infect humans as well. *S. pseudintermedius* has several virulence factors and the mechanism behind its resistance is complex. Resistance genes have been acquired from other *Staphylococcus* spp., for example *S. aureus*, and it has been shown that resistance genes can be transferred between antibiotic sensitive and resistant species. An increased development of resistance among isolated *S. pseudintermedius* is seen in Europe and the prevalence of MRSP among dogs is increasing. During the middle of the 21st century no spread of clones between countries were seen. Today the clones that earlier were confined to Sweden and Germany are now also present in the rest of the world. Focus has the last year's been at sequencing MRSPs genome to get an understanding of the mechanism behind the resistance. More studies about the actual prevalence of MRSP in Europe are needed, to get control over the spread. Routines for personnel hygiene in veterinary hospitals and control programmes are also needed to lower the spread of the bacterium and increase the knowledge about MRSP in veterinary medicine, which hopefully will decrease the profuse use of antibiotics in Europe. Programmes as Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring Programme (SVARM) may already contribute to the fact that a reduced increase of MRSP during the year's 2007-2009 compared to 2006-2007 is seen.

## INLEDNING

En alltför frikostig användning av antibiotika inom veterinärmedicinen har selekterat fram nya resistent bakterier (Rota et al., 2011). Exempel på detta är meticillinresistent *Staphylococcus aureus* och *Staphylococcus pseudintermedius*, även kallade MRSA och MRSP. De senaste åren har det skett en alarmerande ökning av MRSP hos katter och hundar i Europa och det har även visat sig att MRSP kan smitta människor (Stegmann et al., 2010). För att vi ska kunna kontrollera spridningen och minska förekomsten av MRSP krävs det mer forskning som leder till kunskap om bakteriens genom och hur resistensen utvecklas (Black et al., 2009). Med hjälp av tillgänglig forskning syftar denna litteraturstudie till att sammanfatta den kunskap som finns om mekanismen bakom *Staphylococcus pseudintermedius* (*S. pseudintermedius*) resistensutveckling samt hur förekomsten av MRSP har förändrats hos hundar i Europa under en femårsperiod.

## Bakgrund

Stafylokocker är en vanlig hudbakterie hos däggdjur och det finns ungefär 40 olika species. De är grampositiva, fakultativt anaeroba och icke sporbildande. De stafylokocker som kan bilda enzymet koagulas, som kan koagulera blodplasma, kallas för koagulaspositiva stafylokocker. De flesta patogena arterna tillhör de koagulaspositiva och de är sju stycken som heter: *Staphylococcus aureus*, *S. intermedius*, *S. schleiferis subsp. coagulans*, *S. hyicus*, *S. lutrae*, *S. delphini* och *S. pseudintermedius* (Sasaki et al., 2007). *Staphylococcus intermedius*-gruppen (SIG) kallas en grupp stafylokocker som är nära besläktade. De som ingår i gruppen är *S. intermedius*, *S. pseudintermedius* och *S. delphini*. Under senare år har det rått en del förvirring kring identifiering och skillnad mellan *S. intermedius* och *S. pseudintermedius* vilket kan bero på att de har liknande 16S rRNA sekvenser, att de är lika fenotypiskt och att det varit brist på kommersiella analysmetoder. Man har genom molekylär identifiering sett att isolat som tidigare identifierats fenotypiskt som *S. intermedius* i själva verket varit *S. pseudintermedius* och *S. delphini* (Sasaki et al., 2007). Det har även visat sig att det är *S. pseudintermedius* och inte *S. intermedius* som är den vanligaste hundpatogenen som orsakar pyodermi (Bannoehr et al., 2007). *S. pseudintermedius* omskrevs som en egen species 2005 (Devriese et al., 2005) och de isolat som hos hund tidigare identifierats som *S. intermedius* bör betraktas som *S. pseudintermedius* såvida det inte bevisas genom genomisk undersökning att det är en annan species. I den här litteraturstudien kommer tidigare identifierade *S. intermedius* hos hund således benämnas *S. pseudintermedius*. Detta stöds av flera studier (Devriese et al., 2005; Sasaki et al., 2007; Ruscher et al., 2009). *S. pseudintermedius* är vanligast förekommande hos hund och kallas för hundens stafylokock (Sasaki et al., 2007). Bakterien är en opportunist som ingår i hundens normalflora och isoleras ofta från hud-, öron-, och andra sekundärinfektioner hos hund (Bannoehr et al., 2007).

## MATERIAL OCH METODER

Databaserna som jag använt mig av är PubMed, Science Direct och Scopus. Sökbegreppen har främst varit *staphylococcus AND pseudintermedius AND europe AND (dog OR dogs OR canine)*, *"intermedius group" AND pseudintermedius, first AND pseudintermedius AND Europe, methicillin AND resistant AND carriage AND (dog OR dogs)*, *"staphylococcus pseudintermedius" AND dog AND dogs AND human, spread AND europe AND, pseudintermedius AND (dog OR dogs) samt pseudintermedius AND mecA*.

Litteratursökningen har begränsats till relativt nypublicerade artiklar och större tidskrifter. Det finns mer forskning gjord på molekylär nivå än om förekomsten av MRSP varför mer artiklar



om det förstnämnda hittats. Via översiktsartiklar har en första inblick i ämnet skapats och med hjälp av referenserna i dessa hittades fler artiklar. Vad gäller antibiotikaresistensens utveckling har ingen begränsning gjorts utan de vetenskapliga artiklarna som hittats har använts. Förekomsten hos hundar har begränsats till Europa men artiklar från andra länder har också hjälpt till att skapa en helhetsbild.

## LITTERATURÖVERSIKT

### Virulens

*S. pseudintermedius* producerar flera enzymer som är avgörande för dess virulens. Förutom koagulas som kan koagulera blodplasma producerar *S. pseudintermedius* proteas, termonukleas och toxiner. *Nuc*-genen kodar för enzymet termonukleas som hydrolyserar DNA. Exempel på toxiner som *S. pseudintermedius* producerar är enterotoxiner, exfoliativa toxiner och haemolysiner. Det är de exfoliativa toxinerna som orsakar pyodermi hos hund. *S. pseudintermedius* kan binda till fibrinogen vilket kan förklara dess förmåga att binda in till corneocyter i huden (Fitzgerald 2009).

Virulensen hos en bakteriepopulation är korrelerad till populationens storlek och är avgörande för hur effektivt försvaret blir mot värdens immunförsvar. Bakteriers förmåga att känna närvaro av andra bakterier inom samma species och att samspelt kunna uttrycka specifika resistensgener kallas ”quorum sensing” (Winzer, K. och Williams, P. 2001). Hos *S. pseudintermedius* är det en genregulator vid namn accessory gene regulator (*agr*) som medierar ”quorum sensing”. Denna regulator är således en viktig del i bakteriens virulens. *AgrD* kodar för ett protein som är en autoinducerande peptid (AIP) och vanligtvis ses specifika AIPs för varje species, varför fynd av identiska AIPs inom SIG tyder på ett bevarande av ”quorum sensing”-systemet (Bannoehr et al., 2007). Bakterier kan även bemöta immunförsaret genom immunoglobulin-bindande protein. Hos stafylokocker är det *spa*-genen som uttrycker ett protein vid namn protein A, vilket binder till värdens antikroppar (Moodley et al., 2009).

### Antibiotikaresistens

#### Betalaktamasbildning och meticillinresistens

Resistensutveckling mot  $\beta$ -laktamantibiotika (penicilliner, aminopenicilliner och cefalosporiner) kan ske genom betalaktamasbildning (tidigare penicillinas) eller genom förvärvande av *mecA*-genen. Betalaktamas är ett enzym som bakterien bildar. Det bryter ned  $\beta$ -laktamringen hos penicilliner och aminopenicilliner. Meticillinresistens innebär resistens mot alla  $\beta$ -laktamantibiotika. Det är *mecA*-genen som förknippas med meticillinresistens då den gör *S. pseudintermedius* resistent mot alla  $\beta$ -laktamer (Black et al., 2009). Detta sker genom att *mecA* kodar för ett förändrat penicillinbindande protein i cellväggen hos bakterien. Det förändrade proteinet gör att antibiotikan får en sämre affinitet för bakterien vilket resulterar i att den inte kan binda in och därför inte heller hämma cellväggsyntesen. Följden blir att bakterien är resistent mot antibiotikan.

”Staphylococcal Cassette Chromosome *mec*” (*SCCmec*) heter ett element som transporterar *mecA*-genen på kromosomen. Man har identifierat åtta olika typer av *SCCmec*: *SCCmec* I-VII och *SCCmec* II-III som är en egen typ (Descloux et al., 2008). Känsligheten för olika antibiotika varierar mellan olika *SCCmec*-typer och att nya *SCCmec*-typer identifierats innebär således nya transportörer för *mecA*-genen (Ishihara et al., 2010).

## Överföring av resistensgener

SCC*mec* och *mecA*-genen kan överföras horisontellt mellan meticillinkänsliga och resistenta stammar (Bannoehr et al., 2007; Descloux et al., 2008; Ruscher et al., 2009). Med detta menas att generna kan överföras mellan bakterier som inte nödvändigtvis behöver vara nära besläktade. Vissa SCC*mec* har *S. pseudintermedius* förvärvat från *S. aureus* och andra har utvecklats genom en kombination av gener från *S. epidermidis* och *S. aureus* (SCC*mec* II-III) (Descloux et al., 2008; Perreten et al., 2010). Friska hundar kan vara reservoarer för resistensgener och sprida dessa till andra hundar (Rota et al., 2011).

## Resistensmönster och resistensutveckling

I Europa har den högsta resistensen setts mot oxacillin men resistens även mot icke- $\beta$ -laktam antibiotika har under senare år upptäckts. I en studie gjord i Tyskland visade sig 45 av 46 MRSP-isolat (97,8 %) vara resistenta mot erytromycin, klindamycin, gentamicin, tobramycin, ciprofloxacin, levofloxacin och trimetoprim/sulfametoxazol (Ruscher et al., 2009). Europa har varit relativt förskonat ifrån resistens mot fluorokinoloner och cefalosporiner varför stafylokockinfektioner hos hundar ofta behandlats med dessa antibiotika. Följderna av detta ses idag då alltmer resistens mot fluorokinoloner och cefalosporiner utvecklas (Descloux et al., 2008). Denna resistens förvärvas genom förändringar i topoisomerasgener. Topoisomeras är ett enzym som vindlar upp DNA under replikation och transkription. Det är oroväckande att MRSP i vissa fall visat sig vara resistent mot aminoglykosider, kinoloner, folsyreantagonister, makrolider och linkosaminer, kloramfenikol och rifampicin, vilket är i princip alla de antibiotika som används inom veterinärmedicinen (Perreten et al., 2010).

I Sverige 2009 var ungefär en tredjedel av identifierade *S. pseudintermedius* resistenta mot tre eller fler antibiotika och 9 % var resistenta mot minst fem antibiotika. Majoriteten var penicillinresistenta (Bengtsson et al., 2009). Studier från Tyskland har visat att det fungerar relativt bra att behandla *S. pseudintermedius* med fusidinsyra som är en antibakteriell steroid (Loeffler et al., 2007). Även MRSP-isolat funna i Tyskland har visat sig vara känsliga för fusidinsyra (Ruscher et al., 2010). Enligt Bengtsson med kollegor (2009) finns förutom resistens mot tetracyklin, klindamycin och erytromycin även resistens mot fusidinsyra hos *S. pseudintermedius* i Sverige. Vankomycin är en glykopeptidantibiotika som vanligen är verksamt mot MRSP men restriktioner för användning inom veterinärmedicin bör iaktas för att minska risken för resistens på humansidan (Stegmann et al., 2010). År 2009 gjordes en studie i Norge där resistensen hos 59 identifierade *S. pseudintermedius*, från hundar som inte tidigare hade behandlats med antibiotika, undersöktes. Så mycket som 70 % av dessa var penicillinresistenta, 49 % resistenta mot fusidinsyra och 42 % resistenta mot tetracyklin (Norström et al., 2009).

## Identifiering av meticillinresistenta *S. pseudintermedius*

För att identifiera *S. pseudintermedius* används både feno- och genotypning. *S. pseudintermedius* ger vanligen en tydlig dubbelhemolys på blodagar men den kan även växa utan dubbelhemolys. Katalasaktivitet och gramfärgning är också steg i identifieringen av *S. pseudintermedius* (Descloux et al., 2008). Pulsfältsgelelektrofores (PFGE) är det som används standardmässigt för epidemiologisk typning av MRSP. Denna metod går i stora drag ut på att sönderdela hela bakteriens genom med hjälp av restriktionsenzym. Bakteriens DNA gjuts in i agarosgel som förses med spänning från flera olika håll. Bakteriens DNA kommer då att vandra i olika mönster och sedan jämförs detta vandringsmönster med andra, tidigare identifierade kloners vandringsmönster. Det är dock en relativt arbetsam och kostsam metod

(Black et al., 2009). Genom att utnyttja kunskapen om *S. aureus* har det upptäckts andra identifieringssätt. Exempel på detta är en molekylärmetod där *spa*-genen används för att identifiera *S. pseudintermedius* (Moodley et al., 2009). *Spa*-typning är en enklare och snabbare metod till typning än PFGE. Skillnaden med PFGE är att man här endast tittar på en gen. Redan ett år efter att den första *spa*-genen identifierades så upptäcktes en ny typ av *spa*-genen (Perreten et al., 2010) och fram till 2010 hade fem olika typer upptäckts, t02, t05, t06, t15 och t23 (Ruscher et al., 2009). Detta är ett tecken på *S. pseudintermedius* snabba förmåga till anpassning och förändring av sitt genom.

Fler metoder som används för identifiering av meticillinresistenta *S. pseudintermedius* är bland annat Polymeraskedjereaktion (PCR). Med denna metod är det möjligt att amplifiera den DNA-sekvens som är av intresse. DNA:t separeras i olika temperaturer och med hjälp av primers, nukleotider och enzyme kan sedan nytt DNA skapas och läsas av. PCR används bland annat för att identifiera *MecA*, *SCCmec* och 16S rRNA-sekvenser hos misstänkta MRSP-isolat (Black et al., 2009; Devriese et al., 2005). *MecA*-typning tillsammans med *spa*-typning ger en snabb identifiering av MRSP (Moodley et al., 2009). Det finns även en PCR-metod där man använder *nuc*-genen för att kunna särskilja olika koagulaspositiva stafylokocker. *Nuc*-genen har blivit väl konserverad hos de olika koagulaspositiva stafylokockerna varför det är en pålitlig gen att använda vid identifiering (Sasaki et al., 2010).

PCR-restriction fragment length polymorphism (RFLP) är en variant av PCR, vars metodik är lik PFGE, men här är det bara en gen som undersöks. Microarrays kan användas för att identifiera resistensgener. DNA med kända nukelinsyror fästs på en mikromatris och till denna tillsätts fluorescensmärkta nukleinsyror från det DNA som man vill undersöka. Det fluorescensmärkta DNA:t hybridiserar till målsekvenser på det kända DNA:t. Färgintensiteten är korrelerad till mängden DNA som hybridiserar. Med hjälp av scanning kan sedan koncentrationen av vissa gener, exempelvis resistensgener, mätas. Antibiotikakänslighet kan testas genom spädningar och diffusionsgradienter (Perreten et al., 2010). Med hjälp av en så kallad VetMIC™-platta (SVA, Uppsala, Sverige) undersöks resistensmönstret hos identifierade *S. pseudintermedius*. Med denna kan ett minsta inhiberande koncentrationvärde (MIC) fås fram, vilket anger den minsta halten av antibiotika som krävs för att bakterien ska hämmas. VetMIC™-plattan består av brunnar med olika spädningar av olika antibiotika. Bakteriematerial inokuleras i plattorna och ju högre MIC-värde desto mindre känslig bakterie.

## **Förekomst av MRSP**

### **Klonal diversitet och spridning av kloner**

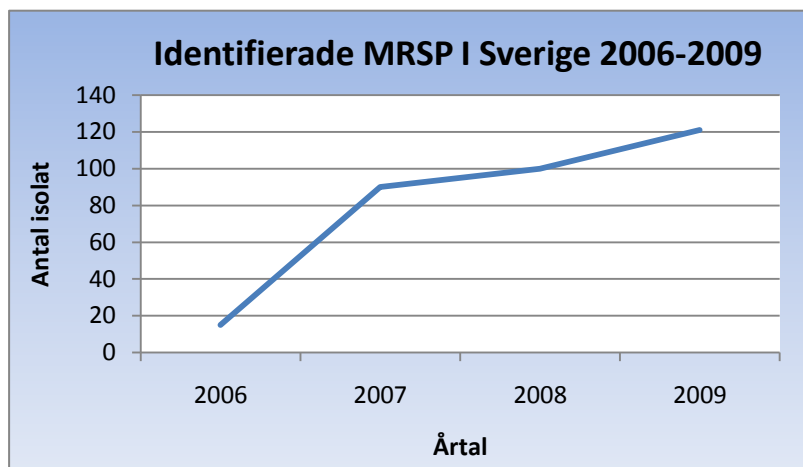
Vissa distinkta MRSP-sekvenser (STs) som skiljer sig mycket i olika loci har identifierats och sex olika STs har hittills upptäckts, ST29, 68, 69, 70, 71 och 105 (Bannoehr et al., 2007). Bannoehr med kollegor (2007) menar att eftersom dessa STs är samma för olika MRSP runt om i världen så tyder det på att de utvecklats från ett gemensamt ursprung. Att dessa STs har en bred klonal diversitet skulle förklaras med att det under evolutionen har skett förändringar i genomet (Bannoehr et al., 2007). Med diversitet menas att det finns variationer inom genens loci. Dock menar flertalet andra författare (Norström et al., 2009; Perreten et al., 2010; Nienhoff et al., 2010) att de senare isolaten av MRSP har en så pass stor heterogenicitet att en historia med en gemensam källa är uteslutet. En studie från USA har visat att det där finns en dominans av klonen ST68 med *SCCmec*-transportörer som liknar *S. aureus*. I denna studie identifierades även klonen ST105. Denna nya sekvenstyp tillhörde inte någon av de vanliga *SCCmec*-typerna och hade ett genetiskt mönster som inte tidigare setts. De meticillinkänsliga

stammarna visade sig ha större genetisk variation än de meticillinresistenta och *mecA*-genen hade inte några variabla loci vilket tyder på att den konserverats över tid (Black et al., 2009).

I Sverige och Tyskland ses under slutet av 2000-talet en dominans av klonen ST71 (Bannoehr et al., 2007). SCC*mec*-typ III har varit den mest beskrivna SCC*mec*-typen (Sasaki et al., 2007; Ruscher et al., 2009), men klonen i Sverige och Tyskland har visat sig tillhöra SCC*mec*-typen II-III. I en tysk studie gjord 2010 visar sig alla MRSP-isolat tillhöra SCC*mec*-typen II-III (Nienhoff et al., 2010). Fram till år 2007 verkade det inte förekomma något utbyte av kloner mellan Europa och USA (Bannoehr et al., 2007). Klonerna hade ökat markant inom de olika länderna men inte spridits emellan dem. Inte mer än tre år senare ses isolat av MRSP av klonen ST71 tillhörande SCC*mec* II-III hos hundar i Canada, USA och Hong Kong (Perreten et al., 2010 och 2011) vilket är en indikation på att MRSP nu sprids mellan olika länder i hela världen.

### Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring Programme

Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring Programme (SVARM) bildades år 2000 för övervakning av antibiotikaanvändning och antibiotikakänslighet hos bakterier på nationell nivå. Programmet organiseras och drivs av Statens Veterinärmedicinska Anstalt (SVA) och resultaten presenteras årligen. Det görs regelbunden kontroll av antibiotikakänsligheten hos enteriska indikatorbakterier som *Escherichia coli* och *Enterococcus* spp., zoonitiska bakterier som *Salmonella* och *Campylobacter* samt specifika djurpatogener som exempelvis *S. pseudintermedius*. Detta sker bland annat genom provtagning av slaktkroppar, sammanställning av inlämnade prover till djursjukhus och via post-mortem undersökningar gjorda på SVA. Apoteket AB (Stockholm, Sverige) bidrar med statistik över antibiotika som förskrivs inom det veterinära området. I det årliga resultatet ses trender i antibiotikaresistens och användning av antibiotika inom landet. En sammanställning av SVARMs rapporter om MRSP från åren 2006-2009 visas i Figur 1.



Figur 1. Frekvensen av MRSP hos hund i Sverige under åren 2006-2009. Sammanställt av information från Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring Programme (SVARM).

### Förekomst av MRSP hos hundar i Europa

På en hudklinik i norra Tyskland visade sig 12 av 51 prover vara multiresistenta *S. pseudintermedius* vilket motsvarade 23 % av isolaten. Proverna togs mellan maj 2005 och oktober 2006 från hud- och öroninfektioner hos 11 hundar och en katt (Loeffler et al., 2007). Av 16 103 kliniska prover från olika djurslag som 2007 undersöktes på två större laboratorier

i Tyskland, med avseende på MRSP, identifierades 870 isolat av *S. intermedius*-familjen (SIG). Av dessa var 72 isolat MRSP och 61 av dem isolerades från hund. Sex fall var katt, fyra fall kom från häst och ett fall från en åsna. Detta betyder att 0,45 % av de 16 103 proverna var MRSP och att 0,38 % var MRSP hos hund. Hudinfektioner var den vanligaste källan i jämförelse med urogenital-, öron-, hud- och slemhinneområden (Ruscher et al., 2009). I en annan studie som pågick mellan september 2007 och januari 2009 undersökte man 814 hundar vilka besökte ett litet djursjukhus i Tyskland. Sextio stycken av dem (7,4 %) var positiva för MRSP. Av dessa var majoriteten behandlade med antibiotika innan studien började, de flesta inom en sex månadersperiod (Nienhoff et al., 2011).

Ett tiotal olika kennlar provtogs i Italien 2010 med avseende på förekomst av meticillinresistenta *S. pseudintermedius*. Från 89 avelstikar och 27 döda valpar isolerades 76 respektive 13 *S. pseudintermedius*. Alla identifierade *S. pseudintermedius* visade sig ha hög resistens mot penicillin, ampicillin, spiramycin och tetracyklin. Sju isolat från tikarnas mjölk samt tre från valparna visade sig vara oxacillinresistenta. Sex av dessa sju isolat samt de tre oxacillinresistenta isolaten från valparna bar på *mecA*-genen vilket gav en prevalens av meticillinresistenta *mecA*-isolat på 10,1 %. Studien visade även att meticillinresistensen var högre hos de kennlar som rutinmässigt gav antibiotika vid slutet av dräktigheten (Rota et al., 2011).

I ett examensarbete som gjordes 2010 togs 56 prover från ett universitetsdjursjukhus i Sverige, både från humana ytor och från ytor som djur vidrört. Tolv prover visade sig vara *S. pseudintermedius*. Av dessa tolv var det nio stycken som klassades som MRSP då de bar på *mecA*-genen vilket motsvarar 16 % av de 56 prover som togs. Strikt humana ytor visade sig också innehålla *S. pseudintermedius* vilket tyder på att handhygien hos personalen är viktig för att inte sprida smitta mellan hundarna som besöker djursjukhuset (Gustafsson 2010). Ett annat examensarbete gjordes samma år och på samma djursjukhus men här undersöktes istället kirurgiskt behandlade hundar. Av de 45 hundar som ingick i studien var sex av dessa positiva för MRSP och det motsvarar 13,3 % av de medverkande hundarna. Dessa hundar var bärare men inte sjuka av bakterien (Leander 2010). Leander har även redovisat att det mellan 2009-01-01 – 2009-12-01 identifierats 58 isolat av MRSP på Sveriges Veterinärmedicinska Anstalt (SVA).

### **Förekomst av MRSP hos människa**

Även om det än så länge inte är vanligt förekommande att människor smittas av MRSP så har personal på djursjukhus visat sig kunna vara bärare av *S. pseudintermedius* vilket är en indikation på att smitta mellan hund och människa kan ske (Perreten et al., 2011). Det har också setts infektion av MRSP-klonen ST71 av *spa*-typ t02, innehållandes SCC*mec* II-III, hos en människa. Det är samma MRSP-klon som setts hos hund de senaste åren (Stegmann et al., 2010)

## **DISKUSSION**

Litteraturen avslöjar att *S. pseudintermedius* virulens är beroende av många olika egenskaper (Fitzgerald 2009). Virulensen är avgörande för om bakterien ska överleva värdens immunförsvar och utan virulensfaktorer skulle *S. pseudintermedius* resistensutveckling vara förgäves. För att bakterien ska kunna kolonisera krävs att den kan binda till fibrinogen (Fitzgerald 2009). För att den ska kunna motstå värdens antikroppar krävs virulensegenskaper som exempelvis protein A bidrar med (Moodley et al., 2009). Det har visat sig att vissa virulensgener bevarats i generationer (Bannoehr et al., 2007) vilket tyder på att de varit

framgångsrika och att bakterierna med hjälp av dessa gener har kunnat överleva och föra sitt genom vidare. Andra virulensgener som till exempel *spa*-genen används för typning och identifiering av *S. pseudintermedius* (Moodley et al., 2009).

*S. pseudintermedius* kan vara resistent mot antibiotika på olika sätt, betalaktamasbildningen försvårar för penicilliner och aminopenicilliner, medan förvärvande av *mecA*-genen ger resistens mot alla betalaktamantibiotika (Black et al., 2009). Ett ökat användande av fluoroquinoloner och cefalosporiner har gjort att bakterien skyddar sig genom förändringar i topoisomerasgener vilket ger resistens mot dessa antibiotika (Descloux et al., 2008).

*S. pseudintermedius* förmåga att förändra sitt genom efter rådande omständigheter, vilket den gjort bland annat genom att förvärva resistensgener från andra stafylokocker, (Ruscher et al. 2009) och förmågan att förändra och skapa nya resistensgener (Ishihara et al., 2010) är oroväckande. Flertalet studier säger även att resistensgener kan överföras mellan antibiotikaresistenta och känsliga bakterier (Bannoehr et al., 2007; Descloux et al., 2008; Ruscher et al., 2009). Om allt fler bakterier förvärvar förmågan att överföra sina resistensgener till andra obesläktade bakterier, som idag är antibiotikakänsliga, så skulle detta kunna få oanade konsekvenser.

Det råder delade meningar om huruvida MRSP har utvecklats från en gemensam klon eller inte. Bannoehr med kollegor (2007) vill dra slutsatsen att eftersom specifika STs, vilka tycks bevarats under en längre tid har identifierats, så betyder det att det funnits ett gemensamt ursprung. MRSP-isolat som identifierats under de senaste åren tycker Norström (2009), Perreten (2010) och Nienhoff med kollegor (2011) innehar en så pass stor heterogenicitet att ett gemensamt ursprung är uteslutet. Min åsikt är att det är logiskt att specifika STs med stora variationer i olika loci skulle syfta till att *S. pseudintermedius* har levt en längre tid med sin värd och under evolutionen lyckats anpassa sig till värdjurets förändrade miljö. Senare isolat med stor heterogenicitet är ett resultat av de senaste årens kraftiga ökning av meticillinresistenta *S. pseudintermedius*. Vår frikostiga användning av antibiotika har selekterat fram nya, motståndskraftiga kloner och därmed bidragit till den förändring som ses i MRSPs genom och i den ökande förekomsten av bakterien.

Föränderligheten hos bakterien gör att mekanismen bakom *S. pseudintermedius* resistens är komplex och svår att förstå. Studierna visar att MRSP i flera fall är multiresistent (Perreten et al., 2010; Bengtsson et al., 2009) och även om resistensutvecklingen skiljer sig mellan olika länder så ses generellt ett ökande resistensmönster. MRSP är i flera fall resistent mot alla antibiotika som används inom veterinärmedicinen (Perreten et al., 2010) vilket gör infektioner med MRSP otroligt svåra att behandla. Vanligtvis går MRSP att behandla med exempelvis vancomycin men Stegmann med kollegor (2010) anser att det gäller att vara restriktiv med det antibiotikum som fortfarande fungerar på multiresistenta bakterier. De menar att vi måste spara på medlen för att undvika att resistensen sprider sig på humansidan. Jag tycker att det blir en fråga om etik och moral där gränserna för vilka antibiotika som ska sparas till människor och till vilken grad restriktionerna ska sträcka sig blir ett svårt beslut. Vem eller vilka som ska ta det beslutet är också en fråga som tål att tänkas på. Samtidigt blir det förödande om resistens utvecklas mot alla antibiotika, då kommer både djur och människor drabbas av obotliga bakteriesjukdomar. Utvecklingen av nya läkemedel måste därför fortsätta och kanske kan ett vaccin vara räddningen om MRSP inte går att hejda på annat sätt.

Sammanställning av SVARMs arbete under åren 2006-2009 visar en ökning av MRSP i Sverige (Bengtsson et al., 2006-2009). Förekomsten av MRSP varierar kraftigt mellan olika djursjukhus i olika länder enligt de vetenskapliga artiklarna som jag sammanställt. En av

orsakerna till detta kan vara att det är flertalet faktorer som avgör förekomsten av MRSP. Till exempel så kan både hundar som tidigare behandlats med antibiotika och hundar som inte behandlats med antibiotika vara bärare av MRSP (Nienhoff et al., 2011; Norström et al., 2009), men det är svårt att veta om de som behandlats med antibiotika har större benägenhet att infekteras med MRSP än de som inte har behandlats. Storleken på djursjukhuset kan också påverka. Vid ett större sjukhus är smittrycket högre då frekvensen av besökande djur är hög och golvytor i väntrum, entrémattor och behandlingsrum är områden där bakterier tenderar att växa till (Gustafsson 2010). Typen av djursjukhus är avgörande för förekomsten av MRSP. Eftersom *S. pseudintermedius* är en vanlig hudbakterie hos hund, ses en högre förekomst av MRSP i de prover som analyserats från hudklinik (23 %) (Loeffler et al., 2007) än från laboratorier där prover från alla typer av djursjukhus skickats in (0,45 %) (Ruscher et al., 2009). Forskningens fokus har under de senaste åren lagts på sekvensering av MRSPs genom, att hitta resistensmönster och jämföra kloner mellan länder och kontinenter för att kunna förstå hur bakterien spridit sig. Därför finns det få vetenskapliga artiklar om den egentliga förekomsten av MRSP och det gör att det utifrån min litteraturstudie blir svårt att dra slutsatser om detta. Det behövs mer underlag och jämförbara studier så att det går att sammanställa materialet på ett tillförlitligt sätt.

Förhoppningsvis ger SVARMs arbete en ökad medvetenhet och ett mera sparsamt användande av antibiotika inom veterinärmedicinen i Sverige, vilket resulterar i att vi i framtiden ser en minskad resistensutveckling i landet. Kanske bidrar deras arbete redan till att vi ser en minskad ökning av MRSP i Sverige under 2007-2009 i jämförelse med 2006-2007. Det är viktigt med löpande forskning för att hänga med i MRSPs föränderlighet och för att minska spridningen av MRSP krävs att kunskapen som fås av forskningen förs ut till personal på djursjukhusen och till djurägarna. Det behöver upprättas rutiner på djursjukhusen för personal och patienter samt ges information till djurägare om MRSP och rekommendationer om hur de ska agera ifall de har en hund som är infekterad. Om vi inte lyckas hämma spridningen på djursjukhusen så kommer heller inte förekomsten av MRSP att minska. Eftersom bakterien även setts kolonisera personal på djursjukhus (Stegmann et al., 2010) är MRSP inte bara oroande för veterinärmedicinen utan även för humansjukvården. Ingen vill ha en framtid med sjuka djur och människor som vi inte kan behandla.

## REFERENSER

- Bannoehr, J., Ben Zakour, N.L., Waller, A.S, Guardabassi, L., Thoday, K.L., Van Den Broek, A.H.M., Fitzgerald, J.R., 2007. Population genetic structure of the *Staphylococcus intermedius* group: Insights into agr diversification and the emergence of methicillin-resistant strains. *Journal of Bacteriology*, 189(23), 8685-8692.
- Bengtsson, B., Ericsson, U.H., Greko, C., Grönlund A.U., Landén, A., 2006-2009 Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring (SVARM), *Department of Animal Health and Antimicrobial Strategies, SVA*.
- Black, C.C., Solyman, S.M., Eberlein, L.C., Bemis, D.A., Woron, A.M., Kania, S.A., 2009. Identification of a predominant multilocus sequence type, pulsed-field gel electrophoresis cluster, and novel staphylococcal chromosomal cassette in clinical isolates of *mecA*-containing, methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. *Veterinary Microbiology*, 139(3-4), 333-338

- Descloux, S., Rossano, A., Perreten, V., 2008. Characterization of New Staphylococcal Cassette Chromosome mec (SCCmec) and Topoisomerase Genes in Fluoroquinolone- and Methicillin-Resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. *J. Clin. Microbiol.*, 46(5), 1818-1823.
- Devriese, L.A., Vancanneyt, M., Baele M., Vanechoutte M., De Graef E., Snauwaert C., Cleenwerck I., Dawyndt P., Swings J., Decostere A. och Haesebrouck F., 2005. *Staphylococcus pseudintermedius* sp. nov., a coagulase-positive species from animals. *Int J Syst Evol Microbiol*, 55(4), 1569-1573.
- Fitzgerald, D.B., 2009. The *Staphylococcus intermedius* group of bacterial pathogens: species reclassification, pathogenesis and the emergence of methicillin resistance. *Vet Dermatol.* 20(5-6), 490-495.
- Gustavsson, C., (2010) Förekomst av meticicillinresistenta *Staphylococcus* spp. I djursjukhusmiljö. ISSN:1652-8697, examensarbete nr. 2010:32. Sveriges Lantbruks Universitet.
- Ishihara, K., Shimokubo, N., Sakagami, A., Ueno, H., Muramatsu, Y., Kadosawa, T., Yanagisawa, C., Hanaki, H., Nakajima, C., Suzuki, Y., Tamura, Y., 2010. Occurrence and Molecular Characteristics of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* and Methicillin-Resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in an Academic Veterinary Hospital. *Applied and Environmental Microbiology.* 76(15), 5165-5174.
- Leander, M., (2010) Förekomst av meticicillinresistenta *Staphylococcus* spp. hos kirurgiskt behandlade hundar. ISSN:1652-8697, examensarbete nr. 2010:40. Sveriges Lantbruks Universitet.
- Loeffler, A., Linek, M., Moodley, A., Guardabassi, L., Sung, J.M.L., Winkler, M., Weiss, R., Lloyd, D.H., 2007. First report of multiresistant, mecA-positive *Staphylococcus intermedius* in Europe: 12 Cases from a veterinary dermatology referral clinic in Germany. *Veterinary Dermatology*, 18(6), 412-421.
- Moodley, A., Stegger M., Ben Zakour NL., Fitzgerald JR., Guardabassi L., 2009. Tandem repeat sequence analysis of staphylococcal protein A (spa) gene in methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. *Veterinary Microbiology*, 135(3-4), 320-326.
- Nienhoff, U., Kadlec, K., Chaberny, I.F., Verspohl, J., Gerlach, G.F., Kreienbrock, L., Schwarz, S., Simon, D., Nolte, I., 2011. Methicillinresistant *staphylococcus pseudintermedius* among dogs admitted to a small animal hospital. *Veterinary Microbiology*, DOI:10.1016/j.vetmic.2010.12.018
- Norström, M., Sunde, M., Tharaldsen H., Mörk, T., Bergsjö, B., Kruse, H., 2009. Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus pseudintermedius* in the Norwegian Dog Population. *Veterinary Microbiology*, 15(1), 55-59.
- Perreten, V., Kadlec, K., Schwarz, S., Grönlund Andersson, U., Finn, M., Greko, C., Moodley, A., Kania, S.A., Frank, L.A., Bemis, D.A., Franco, A., Iurescia, M., Battisti, A., Duim, B., Wagenaar, J.A., van Duijkeren, E., Weese, J.S., Fitzgerald, J.R., Rossano, A., Guardabassi, L., 2010. Clonal spread of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in Europe and North America: an international multicentre study. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65(6), 1145-1154.



- Perreten, V., So, S.Y.C., Boost, M.V., 2011. Low rate of methicillin-resistant coagulase-positive staphylococcal colonization of veterinary personnel in Hong Kong. *Zoonoses and Public Health*, 58(1), 36-40
- Rota, A., Milani C., Drigo, I., Drigo, M., Corrà, M., 2011. Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* from breeding dogs. *Theriogenology*, 75(1), 115-121.
- Ruscher, C., Lübke-Becker, A., Wleklinski, C.G., Soba, A., Wieler, L.H., Walther, B., 2009. Prevalence of Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from clinical samples of companion animals and equidae. *Veterinary Microbiology*, 136(1-2), 197-201.
- Sasaki, T., Kikuchi K., Tanaka Y., Takahashi N., Kamata S., Hiramatsu K., 2007. Reclassification of Phenotypically Identified *Staphylococcus intermedius* Strains. *J. Clin. Microbiol.*, 45(9), 2770-2778.
- Sasaki, T., Tsubakishita, S., Tanaka, Y., Sakusabe, A., Ohtsuka, M., Hirota, S., Kawakami, T., Fukata, T., Hiramatsu, K., 2010. Multiplex-PCR Method for Species Identification of Coagulase-Positive *Staphylococci*. *J. Clin. Microbiol.*, 48(3), 765-769.
- Stegmann, R., Burnens, A., Maranta, C.A., Perreten, V., 2010. Human infection associated with methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* ST71. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65(9), 2047-2048.
- Winzer, K. och Williams, P., 2001. Quorum sensing and the regulation of virulence gene expression in pathogenic bacteria. *International Journal of Medical Microbiology*, 291(2), 131-143.