



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för Veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för Biomedicin och Veterinär folkhälsa

Förekomst av meticillinresistenta *Staphylococcus* spp. hos kirurgiskt behandlade hundar

Monika R. Leander

Uppsala

2010

Examensarbete inom veterinärprogrammet
ISSN 1652-8697

Examensarbete 2010:40

Förekomst av meticillinresistenta *Staphylococcus* spp. hos kirurgiskt behandlade hundar

Monika R. Leander

Huvudhandledare: Annika Bergström, Universitetsdjursjukhuset, Uppsala

Biträdande handledare: Gunilla Trowald-Wigh, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Examinator: Märit Pringle, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

*Examensarbete inom veterinärprogrammet, Uppsala 2010
Fakulteten för Veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap
Kurskod: EX0234 Nivå X, 30hp*

Nyckelord: Staphylococcus pseudintermedius, resistens, MRSP, kirurgi, antibiotika, meticillinresistens

Online publication of this work: <http://epsilon.slu.se>

ISSN 1652-8697

Examensarbete 2010:40

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Tack	3
Sammanfattning	4
Abstract	4
Bakgrund	5
Meticillinresistens och multiresisten	6
Parametrar som ökar riskerna för postoperativa komplikationer	6
Syfte	8
Metod	8
Provtagning	9
Bakteriologisk odling	11
Konfirmering	11
Resultat	15
Diskussion	17
Antibiotika	17
Typ av operation	18
Tidigare sjukhusvistelse	18
Val av kolonier	18
Faktorer i operationssalen	18
Miljöprover	19
Tillfällig kontamination	19
Betydelse för hundarna	20
Bortfall av prov	20
MRSP i Sverige	20
Vidare studier	21
Litteraturförteckning:	23
Bilaga 1	25

Tack

Följande personer förtjänar ett stort tack:

Annika Bergström som introducerade mig på riktigt till kirurgins vidunderliga värld.

Nu vill jag inget mer än utforska vidare.

Gunilla Trowald-Wigh, som inte skulle ha någon EEF-student men med lite övertalning inte var omöjlig.

Lise-Lotte Fernström: utan vars hjälp det inte blivit många bakterier odlade och inga substrat beställda och som har en fantastisk positiv inställning.

Mona Fredriksson som gjorde PCR-analyser och resten av bakteriologen som delade med sig av goda råd och roliga anekdoter.

Mikaela Eldh har varit en outhärlig teknisk support och utan henne hade min power pointpresentation varit patetisk.

Universitetsdjursjukhuset har ställt upp med provtagningsmaterial och personalen har ställt upp med hjälp när jag har behövt.

Sist men inte minst: Ett stort tack till Forsbergs stiftelse för bidraget som gjort att stor del av analyserna var möjliga att utföra.

Monika Leander

Uppsala

2010-01-13

SAMMANFATTNING

Infektioner till följd av kirurgiska ingrepp är ett återkommande problem, frekvensen av sårinfektioner är 2-5 % hos sällskapsdjur. Ökningen av meticillinresistenta stafylokocker inom veterinärmedicinen de senaste åren och har satt press på hårdare hygienregler och ifrågasättande av antibiotikabehandling. Utbrottet av meticillinresistenta *Staphylococcus aureus* (MRSA) på hästkliniken vid Sveriges lantbruksuniversitet i Uppsala år 2008 indikerade att MRSA-problemet nu var ett reellt, möjligtvis zoonotiskt problem. Sedan den första hunden diagnosticerades som bärare av meticillinresistenta *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) i Sverige 2006 har även infektion med denna bakterie ökat. Från 2009-01-01 fram till 2009-12-02 har Sveriges Veterinärmedicinska Anstalt (SVA) odlat fram 58 isolat av MRSP. Huvudsakligen ses MRSP hos antibiotikabehandlade hundar med operationssår eller hudinfektioner.

Syftet med denna studie var att undersöka huruvida hundar som opereras och behandlas stationärt löper risk att smittas med MRSA eller MRSP samt att identifiera de kritiska punkterna i den kirurgiskt behandlade hundens vistelse på djursjukhuset.

Fyrtiofem hundar ingick i studien och provtogs bakteriellt vid ankomst till kliniken, före och efter operation, innan hemgång och vid stygntagning. Bärarprov togs vid ankomst och vid stygntagning.

Av de 45 hundar som ingick i studien bar en hund MRSP-bakterien vid ankomst till djursjukhuset. En hund var positiv för MRSP i sitt operationssår innan hemgång. Vid stygntagning var det fem hundar som var positiva i sitt bärarprov för MRSP. En hund var positiv i sitt operationssår vid stygntagning, denna hund hade haft en sårkomplikation vilken behandlats med dränage och antibiotika. Samtliga prover var negativa avseende MRSA.

ABSTRACT

Surgical site infections are a recurrent problem in veterinary medicine. A 2-5 % infection rate in clean surgery has been reported. During the last years the increase in methicillin resistant staphylococci has also taken its toll on veterinary medicine, demanding a stricter hygiene and antibiotic regime. The 2008 outbreak of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) at the University animal hospital, Swedish University of Agriculture indicated that that the MRSA problem was now a real, possibly zoonotic problem.

Since the first dog, in Sweden, was diagnosed as a carrier of methicillin resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) in a study in 2006, the infection rate by this bacterium has increased. In 2009 (January 1st - December 2nd) the National Veterinary Institute (SVA) has identified 58 samples as MRSP positive. The samples mostly originate from surgical site infections and skin infections.

The aim of this study was to investigate whether dogs that were treated surgically followed by hospitalization in the ward was at risk of contracting an MRSA or MRSP

infection. The intention was to sample the dogs at critical points throughout the treatment.

Forty-five dogs were included in the study and were all sampled at arrival to the animal hospital on the day of surgery. One sample was taken before surgery, another at the time when the surgeon had closed the wound and one sample was taken the day after surgery, before the dog was discharged. Carriership samples were taken on arrival and on the day when the stitches were removed.

At remission, one dog tested positive for MRSP carriership. One of the dogs had MRSP in the surgical site one day postoperatively. Five of the dogs were MRSP carriers when sampled at the time of stitch removal. One dog had an MRSP infection in the surgical wound at the time of stitch removal. The wound had been drained and treated with antibiotics eight days after surgery. None of the samples were positive for MRSA.

BAKGRUND

Trots att antibiotika ofta används profylaktiskt vid kirurgiska ingrepp är sårinfektioner ett betydande problem inom veterinärmedicinen. Patienterna slickar och gnager gärna på sina stygn om de kommer åt. Hundar lägger sig ofta direkt på golvet och ställer således stora krav på hygien i både väntrum och korridorer på ett djursjukhus och inte bara den individuella buren där hunden vistas före och efter operationen.

Vid ortopediska ingrepp kan man reducera risken för postoperativa infektioner genom att använda antibiotika perioperativt, så att effektiva serumnivåer uppnås innan det första snittet läggs (Piermattei & Johnson, 2004). Onödigt användande av antibiotika vid kirurgi som är ren och utan komplikation ökar dock risken för sårinfektion (Brown et al., 1997; Eugster et al., 2004).

Frekvensen av postoperativa infektioner var 4,7 % i en epidemiologisk studie som inkluderade 1574 operationssår på 1255 hundar och katter. Förutsättningen var att ingreppet var rent och inte kontaminerat (Brown et al., 1997). I en liknande retrospektiv studie som inkluderade 1010 ingrepp på hund och katt var frekvensen av postoperativa infektioner 2 % (Eugster et al., 2004).

Problemet med multiresistenta bakterier har ökat världen över de senaste åren och en av de bakterier som främst varit i fokus är *Staphylococcus aureus*. Meticillinresistenta *Staphylococcus aureus* (MRSA), har orsakat 18600 människors död i USA under 2005 (Klevens et al., 2007). *Staphylococcus aureus* är en normal hudbakterie som förekommer på många djurslag och som på oskadad hud/slemhinna inte orsakar någon sjukdom. Då medvetenheten runt MRSA ökat har även dess betydelse inom veterinärmedicinen uppmärksamats. MRSA har en zoonotisk potential (Lefebvre et al., 2009).

Sommaren 2008 infekterades hästar med MRSA vid Universitetsdjursjukhusets (UDS) hästklinik på Sveriges Lantbruksuniversitet (SLU), Uppsala. Man vet än idag inte var utbrottet hade sin källa. Under samma år diagnosticerades även tre hundar med MRSA i Sverige (SVARM, 2008) och sedan 2008-01-01 är MRSA på djur anmälningspliktig.

Hundens motsvarighet till *S. aureus* är *Staphylococcus pseudintermedius*. För bara några år sedan gick denna bakterie under namnet *Staphylococcus intermedius* och den återfanns hos flera djurslag. Hundens *S. intermedius* skiljer sig dock från t.ex. minkens och fick istället namnet *pseudintermedius*. *Staphylococcus pseudintermedius* är en vanligt förekommande hudbakterie hos friska hundar. Meticillinresistenta *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) påvisades i Sverige första gången 2006 (SVARM, 2008).

Även om *S. pseudintermedius* är hundens stafylokok, kan överföring till människa förekomma. På en veterinärklinik i Nederländerna isolerades MRSP från en kirurg och tre sköterskors näsor. Detta framkom efter att fem hundar och en katt inkommit med infekterade operationssår från samma klinik (van Duijkeren et al, 2008). Vid närmare undersökning av kliniken visade miljöprover att det på flera ställen fanns MRSP. En fullt frisk hund, tillhörande en av personalen, var också bärare av samma stam som återfanns hos kirurgen och sköterskorna.

Även en studie gjord på hundar med djup pyodermi och deras ägare visade att sex av tretton ägare var bärare av resistenta *S.(pseud) intermedius* av samma stam som deras hundar. Resistensmönstret varierade i gruppen och vissa var multiresistenta. I jämförelse var endast en av tretton i kontrollgruppen bärare av någon sorts *S. (pseud)intermedius* (Guardabassi et al., 2004).

I Sverige har fallen av MRSP ökat snabbt. Enligt Swedish Strategic Programme Against Antimicrobial Resistance (STRAMA) rapport 2007 (STRAMA, 2007) diagnosticerade Sveriges Veterinärmedicinska Anstalt (SVA) 99 fall och enligt rapporten rör det sig främst om postkirurgiska infektioner som antibiotikabehandlats.

Meticillinresistens och multiresistens

Många svenska stammar av *S. aureus* och *S. pseudintermedius* är i dag, resistenta mot flera antibiotikatyper dvs. multiresistenta. De flesta av dessa stafylokokker har en gen som kodar för produktion av β -laktamas, ett enzym som inaktiverar de flesta penicilliner och cefalosporiner. Dock är det inte alla enzymer som har en fullständig korsresistens mellan de två antibiotikaklasserna (Rang et al., 2007). Ett semisyntetiskt penicillin, meticillin, utvecklades som var stabilt mot β -laktamas. Fler nya, stabila β -laktamantibiotika och cefalosporiner framställdes också. Meticillinresistens konstateras genom att påvisa *mecA* genen. *MecA* genen är den muterade gen som gör det omöjligt för meticillinet att fästa till bakterien. *MecA* genen återfinns både hos MRSA och MRSP och kan påvisas med hjälp av exempelvis Polymerase Chain Reaction (PCR) eller Latexagglutination.

Parametrar som ökar riskerna för postoperativa komplikationer

Flera studier har gjorts där man identifierat riskfaktorerna för postoperativa sårinfektioner.

Operationstiden är en viktig faktor. Var 70:e minut fördubblas risken att patienten kommer att drabbas av en infektion (Nicholson et al., 2002). I en annan studie kom man fram till att patienten löpte dubbelt så stor risk att få en infektion vid en

operation som tog 90 minuter hade i jämförelse med en som tog 60 minuter (Brown et al., 1997).

Även narkostiden har inflytande på risken för en postoperativ infektion. Inom humanmedicinen har flera studier gjorts på hur immunförsvaret reagerar på sövning. Tillförsel av opiater och anestesiläkemedel (både intravenösa och inhalationspreparat) har visat sig öka risken för postoperativa infektioner. Risken anses större om preparaten ges i högre doser eller under längre tid (Brand et al. 1997). Detta beror på ett antal olika mekanismer men den största anledningen antas vara förhöjda halter av stresshormonet kortisol och hämmande av immunförsvarets naturliga "dödarceller".

Människor som genomgår längre operationer löper större risk för försämrad cirkulation. Anledningen är dels nedkylning men även den låsta ställningen anses vara en viktig faktor. Patienten har oftast fastat upp till ett dygn innan operationen och kan vara dehydrerad vilket kan vara en bidragande faktor. Med försämrad cirkulation får patienten ett sämre lokalt cellmedierat försvar. Patienten kan vara ängslig inför stundande operation och de stressrelaterade kortisolhöjningarna i blodet påverkar också immunförsvaret negativt (Leaper & Melling, 2001).

Hos djur visade sig också andra faktorer ha betydelse. Exempelvis löpte intakta hanar en större risk att utveckla infektion i operationssåret, liksom hundar och katter med endokrina sjukdomar. Studien kunde dock inte visa att faktorer som fetma, undervikt, annan pågående infektion eller lågt blodtryck under operationen ökade riskerna (Nicholson et al., 2002).

Lång vistelse på intensivvårdsavdelning ökar risken för postoperativ infektion, liksom risken för andra sjukhusrelaterade infektioner. Antalet personer i operationsrummet har betydelse. Ju fler människor i salen under pågående operation, desto mer ökar risken för infektioner (Eugster et al., 2004).

Vissa operationer anses vara förknippade med större risk för infektion än andra och antimikrobiell profylax kan vara indikerad. I all ortopedisk kirurgi och speciellt sådan där implantat används är en infektion mycket allvarlig om den får fäste i benet (Fossum et al., 2007). Implantatet är en risk i sig då detta introduceras som ett främmande material och kan hämma både kroppens försvar och antibiotikans verkan, delvis genom att vissa bakterier har potential att bilda en så kallad biofilm. Mikromiljön i implantatområdet har i studier bevisats kräva en mindre dos kontaminerande bakterier för att producera en infektion än ett kirurgiskt område utan implantat (Campoccia et al., 2006). Oftast är den enda lösningen, om man vill få bukt med en sådan infektion, att avlägsna implantatet vilket kan ha allvarliga följder för patienten.

Ortopediska patienter bör ges en profylaktisk dos antibiotika vid sövning som sedan upprepas var 90-120 minut tills operationen är över. Cefazolinnatrium (första generationens cefalosporiner) 20-22 mg/kg IV rekommenderas (Fossum et al., 2007, Plumb DC, 2008). I Sveriges veterinärförbunds antibiotikapolicy för hund och katt från 2002 rekommenderas en engångsdos av cefalotin vid induktion. Denna dos kan upprepas max tre gånger under tjugofyra timmar. Antibiotikaprofylax kan enligt policyn vara indicerat vid operationer i esofagus, vissa operationer i mag och tarmkanalen så som resektion, gallgångskirurgi med infektion, lunglobsextirpation vid infektion i lungvägarna, perinealbräck, höftledsprotos, komplicerad fraktur,

omfattande ledfraktur eller neurokirurgi, långvariga operationer (längre än 1,5-2 timmar) och operationer på högriskpatienter. Policyn är för närvarande under uppdatering (Bergvall et al., 2002).

Kirurgi som exempelvis avlägsnande av en inflammerad livmoder på tikar med livmoderinflammation (pyometra) eller operationer som involverar öppnande av gastrointestinala organ innebär en ökad risk för peritonit eftersom risken finns att innehåll läcker ut i buken. Ett litet läckage kan då ge stora konsekvenser.

Pyometra är en av de, i Sverige, vanligaste sjukdomarna som kräver kirurgi och är en av de operationer som utförs mest frekvent på akuttid. Risken att en okastrerad tik kommer drabbas av pyometra innan tio års ålder är 23-24 % (Egenvall et al, 2001). Pyometra är en livshotande sjukdom om den ej behandlas och av den anledningen är narkosen riskabel. Operation är oftast det enda behandlingsalternativet för tikar med pyometra (Fossum et al., 2007). Risken finns att det redan finns en lindrig peritonit då visst läckage kan ske om livmodern är utspänd eller blivit utsatt för högt tryck. Annars är det här en operation där det finns risk för kontamination. För att minska risken för bakteriell spridning i bukhålan, efter att man avlägsnat den infekterade livmodern, kan man kauterisera (bränna) livmoderhalsstumpen. Finns anledning att misstänka kontamination sköljs bukhålan noggrant med en krystalloid lösning och suggs ren.

Operation av mag-tarmkanal sker under liknande förhållningsätt. Ju mer distalt i mag-tarmkanalen desto större mängd bakterier.

Dåligt preparerade patienter dvs. där rakning och tvättning inte utförts på ett korrekt sätt ökar risken för infektioner i operationssåret (Weese, 2008).

SYFTE

Syftet med studien var att undersöka huruvida hundar som behandlas kirurgiskt med påföljande stationärvård löper risk att bli smittade med meticillinresistenta stafylokokker. Syftet var även att identifiera de kritiska punkterna för smitta i sjukhusvistelsen.

METOD

Inklusionskriterierna för de hundar som ingick i studien var följande:

- Hunden skulle genomgå en operation.
- Hunden skulle stanna minst en natt på djursjukhuset.
- Ingreppet skulle inte vara odontologiskt.
- Operationsområdet var inte från början infekterat.
- Ingreppet skulle generera stygn som skulle avlägsnas.

Majoriteten av operationerna var planerade och djurägarna kontaktades dagen innan och informerades om studien. I ett fåtal fall var det akuta operationer som utfördes på jourtid och då informerades djurägaren direkt på plats.

Vid de planerade operationerna hade hundarna besökt djursjukhuset vid tidigare tillfälle för diagnos och/eller status inför ingrepp och hade således varit utsatta för

sjukhusmiljön tidigare. I vissa av de akuta fallen var det första besöket på djursjukhuset.

Studien är godkänd av Uppsala försöksdjursetiska nämnd och Jordbruksverket har godkänt användandet av privatägda hundar till studien.

Provtagning

All provtagning har skett med Copan (25125 Brescia, Italien) culturetter i Amies media för aerob och anaerob odling.

Bärrprovet

Provtagningen bygger på de ställen som socialstyrelsen rekommenderar för provtagning av MRSA på människa med viss modifiering. Bärrprovet togs från gingiva-mungipa, nosspegel och perianalt samt avslutande med att culturetten fördes in 0,5 cm in i anus.

Bärrproven i denna studie togs som ett samlingsprov.

Bärrprov 1

Vid ankomst till djursjukhuset möttes djurägaren och hunden av provtagaren i väntrummet och Bärrprov 1 (Bp1) togs som samlingsprov direkt efter att djurägarmedgivandet signerats. Vid detta tillfälle togs även prov från övriga sår såsom fukteksem eller liggsår. Culturetten har gnuggades direkt mot det våtskande såret. Detta prov kallades Övrigt sår (Ös).

Operation 1

Patienten gick oftast själv till förberedelserummet efter att den preoperativa medicineringen börjat verka. I vissa fall kunde transport ske med bår eller personalens bårhjälp. På förberedelsebordet rakades och sprittvättades en liten yta för iläggande av en intravenöskateter. På kliniken används propofol som standard induktion och isofluran som underhåll av anestesin. De flesta hundar hydreras under operationen, vanligtvis med Rehydrex med glukos 25 mg/ml (Fresenius Kabi, Uppsala, Sverige). När hundens parametrar hade stabiliserats i narkosen, rakades den över området för det tänkta snittet.

Innan tvätten inleds skall involverad personal ha mun och huvudskydd samt handskar. Den initiala tvätten med såpa och vatten på bomullstussar pågick i minst två minuter. Var operationen ortopedisk skedde tvätten med 4 % klorhexidin-glukonatlösning (Hibiskrub 40mg/ml, Regent Medical, Manchester, England) i stället för såpa. Denna tvätt pågick minst två gånger två minuter.

All synlig smuts måste vara avlägsnad och bomullstussarna rena omgången innan en sista omgång bomullstussar med sprit (klorhexidin sprit 5 % Fresenius Kabi, Uppsala) avslutade förberedelsetvätten.

Efter att spriten hade torkat svabbades culturetten utmed området där snittet skulle läggas. Detta prov kallades Operation 1 (Op1).

Hunden transporterades så till operationssalen på ett, för det tvättade området, så sterilt sätt som möjligt.

Inne på operationsbordet utfördes en sista steriltvätt innan hunden dukades in. Kirurg samt eventuell assistent tvättade sig inför operationen enligt specifika anvisningar (se Bilaga1).

Operation 2

När operationen var slut och kirurgen hade lagt de sista stygnen tog kirurgen eller assistenten culturetten. Culturetten svabbades utmed operationssårets kanter och runt suturerna innan operationstygnerna avlägsnades. Detta prov har kallades Operation 2 (Op2). Majoriteten av patienterna fick därefter ett plåster Hydrofilm (Hartman, ScandiCare AB, Anderstorp, Sverige) för att skydda operationssåret.

Hunden lyftes av operationsbordet till en bår med nytvättad fäll på. Ibland rakades hunden för applikation av ett smärtlindringsplåster med Fentanyl (Janssen-Cilag, Sollentuna, Sverige). Ibland användes befintlig rakad yta. Hunden transporterades till uppvaket, extuberades och väcktes under övervakning av sköterska.

Operation 3

Dagen för hemgång togs ett prov från operationssåret genom att en culturett svabbades utefter sårkanterna. Om såret vätskade inkluderades denna vätska i svabben. Detta prov har kallades Operation 3 (Op3). Vanligtvis återhämtar sig hundar snabbt efter kirurgiska ingrepp och i de flesta fall togs Op3-provet dagen efter operationen. Ibland stannade hunden fler dagar postoperativt och i dessa fall togs provet så nära hemgång som möjligt för att tydligare klarlägga hur utsatt såret är i stallmiljön. Plåstret som skyddade operationssåret avlägsnades vanligtvis vid rondan dagen efter operationen och utvärderades då av ansvarig veterinär. Op3 togs i möjligaste mån av samma sköterskor.

Operation 4 och Bärarprov 2

Efter tio dagar rekommenderar kliniken att patienten återkommer för stygntagning. Den sker på "drop-in" basis och sköts inte av en och samma sköterska varje dag.

I de flesta fall var operationssåret läkt men när stygnen togs kunde oftast lite vätska tränga fram ur dessa och en culturett svabbades runt stygnen. Provet kallades Operation 4 (Op4). Det noterades också hur såret såg ut: om det var inflammerat och/eller infekterat. I vissa fall fanns ingen notering i journalen och det antogs då att inga komplikationer tillstött.

Bärarprov 2 (Bp2) togs också vid stygntagningen för att få en uppfattning om huruvida hunden infekterats sedan förra bärarprovet togs.

För de patienter som inte planerade att återkomma för stygntagning skickades provtagningsmateriel, instruktioner, remiss, och frankerat svarskuvert med för att stygntagande veterinär/ sköterska skulle kunna fullfölja provtagningen. Vid sex tillfällen togs dessa prover av djurägaren själv.

Bakteriologisk odling

Provtagningspinne från Ös ströks direkt på Conradi-Drigalskiagar (Oxoid Ltd, Basingstoke, England) och nötblodagar (Oxoid Ltd, Basingstoke, England) vid ankomst innan provet sedan sattes i buljong.

Provtagningspinnarna klipptes ner i rör med 10 ml TSB-buljong (Oxoid Ltd, Basingstoke, England) med tillsats av 4 % NaCl, 1 % mannitol och 16 µg/ml fenolrött som homogeniserades med 100µl/ml (1 µg/ml) cefoxitin (Sigma-Aldrich, Stockholm, Sverige) och 100 µl/ml (50 µg/ml) aztreonam (Bergman-Labora, Danderyd, Sverige). Inkuberas i 48 timmar i 37 °C Inblandningen av cefoxitin och aztreonam i buljongen gjorde att de flesta av normalflorbakterierna såsom *Enterobacter* spp., *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp. och *Proteus* spp. m.fl. hämmades (Plumb DC, 2008).

Av den inokulerade TSB-buljong ströks 10 µl ut på nötblodagar samt MAST-platta med LiCl som hämmar gram-negativa bakterier (MastGroup Ltd, Merseyside, England). Inkuberades i 37 °C i 48 timmar.

Efter 24 timmar odlades minst fem misstänkta kolonier från nötblodagar och MAST-platta vidare på nötblodagar.

Misstänkt koloni på MAST ska vara gul eller rosa och på nötblod ska hemolys påvisas, helst dubbelhemolys som bildas av alfa och betatoxiner.

Plattorna inkuberades åter i 37 °C i ytterligare 24 timmar och avlästes då åter.

Proverna Bp1, Op1, Op2 och Op3 har kunnat sättas i buljong inom tolv timmar då dessa prover alltid tagits på kliniken. De flesta av Bp2 och Op4 har också kunnat sättas inom tolv timmar men då en del av proverna har inkommit från kliniker och ibland djurägare runt om i landet har målet varit att provet inte skall ha legat i kylskåp mer än 24 timmar innan det har postats.

Konfirmering

Renstrukna misstänkta kolonier med hemolys konfirmerades med biokemiska tester för att identifiera *S. aureus*, *S. pseudintermedius* samt *S. schleiferi*.

Följande biokemiska tester utfördes: (se tabell 1)

Koagulastest: (Håtunaholm, SVA, Uppsala, Sverige). Vid närvaro av enzymet koagulas kommer fibrinogen från hästplasma att omvandlas till fibrin och därmed koagulera. När en bakteriekoloni tillsätts stelnar således plasman över natten om bakterien producerar enzymet och bakterien betecknas som koagulaspositiv. Generellt sett är koagulaspositiva bakterier mer patogena än de koagulasnegativa.

DNas (Oxoid Ltd, Basingstoke, England); plattan stryks med en koloni och inkuberas ett dygn. Har bakterien enzymet DNas, som bryter ner DNA:t i plattan, kommer en zon runt kolonin att klarna vid tillsats av HCl eftersom enskilda nukleotider är lösliga i HCl men DNA:t faller ut. Även DNas anses kopplat till virulens då bakterier behöver nukleotiderna som byggstenar för sin egen nukleinsyra.

Maltos (Difco Purple agar base, Becton, Dickinson & Company, Le Point de Claix, Frankrike ; Maltos+monohydrat, Merck KGaA, Darmstadt, Tyskland); differentierar *S. aureus* från *S. pseudintermedius* då *S. aureus* spjälkar maltos och kommer att bilda en gul zon runt kolonin då plattan inkuberas över ett dygn.

Trehalos (LabLemcobuljong med trehalos artikelnummer: 321180, SVA, Uppsala, Sverige); används för att identifiera *S. aureus* och *S. pseudintermedius* och särskilja dessa från t.ex. *S. schleiferi* då de båda är trehalosspjälkare och *S. schleiferi* endast i undantagsfall spjälkar trehalos.

Tabell 1. Biokemiska tester som utfördes i syfte att skilja de olika stafylokockerna åt och de bedömningsparametrar som användes

	Koagulas	DNas	Maltos (aerobt)	Trehalos
<i>S. aureus</i>	+	+	+	+
<i>S. pseudintermedius</i>	+	+	-	+
<i>S. schleiferi</i>	+/-	+	-	-

Resistensbedömning

En resistensbedömning utfördes sedan med hjälp av en VetMIC MRS-detektionsplatta (artikelnummer 395119, SVA, Uppsala, Sverige) som med hjälp av oxacillin med NaCl, oxacillin utan NaCl och cefoxitin ger användaren ett redskap att, utan att göra en fullständig resistensbedömning, få en uppfattning om när man bör misstänka meticillinresistens.

Kolonimaterial, 1 µl, från så många enskilda kolonier som möjligt, från inkubator slammades i 4 ml fysiologisk koksaltlösning. Tio µl av detta fördes över till 2 ml Brain Heart Infusion (BHI) (Becton, Dickinson & Company, Le Pont de Claix, Frankrike). Av tio µl bör erhållas 10⁶ CFU (colony forming units)/ml. MRS-detektionsplattan droppades med hjälp av multipipett med lösningen och täcktes med plast. Lösningen ströks också ut på blodagarplatta och inkuberades i 34,5 °C i 24 timmar för bedömning av renhet.

VetMIC-plattan visar efter ett dygn i vilken koncentration av antibiotika bakterien klarar av att växa. Om antibiotikan lyckas hämma bakterieväxten kallar man den koncentrationen där hämningen sker för Minimal Inhibiting Concentration (MIC).

Tabell 2. Brytpunkter för Oxacillin- och Cefoxitin-MIC för *Staphylococcus aureus* och *Staphylococcus pseudintermedius* som kan användas som indikator för när en PCR för *mecA*-genen kan vara indicerad

	Oxacillin + 2 % NaCl	Oxacillin utan NaCl	Cefoxitin
<i>S. aureus</i>	>2	>0,5	>4
<i>S. pseudintermedius</i>	>0,5	>0,25	>1

Brytpunkterna för *S. aureus* är satta enligt internationell standard medan brytpunkterna för *S. pseudintermedius* är ett ”inhouse” screeningvärde satt av SVA, då inga internationella brytpunkter existerar.

Polymerase Chain Reaction (PCR)

PCR utfördes i syfte att identifiera ett fragment av 16S rRNA-genen med specifika primers för stafylokocker, *nuc* genen som särskiljer *S. aureus* och *S. pseudintermedius* och till sist *mecA* genen för att påvisa meticillinresistens. Detta gjordes på de stammar som passerade brytpunkterna (se tabell 2).

För att utföra en PCR krävs preparering av DNA, vilket gjordes genom koklysat enligt Capurro et al. (2008)

I 50 µl lysostafinlösning (100 µg/ml i H₂O) (Sigma Aldrich Sweden AB, Stockholm) slammades 1 µl bakterier i ett rör och inkuberades i 10 minuter i 37 °C. Därefter tillsattes 50 µl proteinas K (20 mg/ml)(QIAGEN GmbH, Hilden, Tyskland) och 150 µl 10 mM Tris-HCl (pH 7,5) (BRL, Life Technologies Inc, MD, USA) varefter blandningen homogeniserades och inkuberades i 10 minuter i 54 °C. Provet kokades sedan i 5 minuter och kylades på is i 10 minuter. Därefter följde en centrifugering i 5 minuter, 13000 varv per minut, varefter supernatanten fördes över till ett nytt rör.

Identifieringen av 16S rRNA och *nuc* generna utfördes i en multiplex PCR där flera primerpar användes i en och samma PCR-reaktion. Identifieringen av *mecA* genen skedde i en separat PCR-reaktion.

PCR är en biokemisk metod som används för att amplifiera en specifik DNA-sekvens. Detta görs genom att i olika temperaturcykler separera dubbelsträngat DNA och därefter med hjälp av tillsatta primers, byggstenar i form av nukleotider samt enzym syntetisera nytt DNA i sådana mängder att det kan läsas av. Identifieringen av 16S rRNA- och *nuc*generna, kördes i en multiplex PCR där mastermixen bestod av 2,5 µl ×10PCR buffert II (100 mM TrisHCl, pH 8,3; 500 mM KCl) (Applied Biosystems California, USA), 2,0 µl MgCl₂ (25 mM) (Applied Biosystems California, USA) och 1,5 µl dNTPmix (10 mM) (Applied Biosystems California, USA), 0,3 µl AmpliTaq Gold (5 U/µl) (Applied Biosystems California, USA) samt 14 µl H₂O. Primers är korta nukleotidsekvenser som binder till ändarna på den sökta DNA-sekvensen. I denna PCR-reaktion tillsattes 0,4 µl av följande primers: SInuc1 (10 pmol/µl), SInuc2 (10 pmol/µl), SANuc1 (10 pmol/µl) och SANuc2 (10 pmol/µl) samt 0,3 µl av primers16S1 (10 pmol/µl) och 16S2 (10 pmol/µl) samtliga från

Thermo Fisher Scientific GmbH, Ulm, Tyskland (tabell 3). Slutligen tillfördes 2,5 µl av templatet (det DNA som skall undersökas).

För identifiering av *mecA*-genen gjordes en PCR-mastermix innehållande samma koncentration av PCR buffert II, MgCl₂ och dNTPmix som i multiplexen. Som primers användes 0,4 µl MecA1(10 pmol/µl) och 0,4 µl MecA2 (10 pmol/µl) (Thermo Fisher Scientific GmbH, Ulm, Tyskland) (tabell 3) och även här användes 0,3 µl AmpliTaq Gold (5 U/µl). Dessutom tillsattes 15,4 µl H₂O och 2,5 µl templat till varje PCR-reaktion.

PCR-reaktionerna utfördes i en termocykler och startade med en aktivering av enzymet i 94 °C i 4 minuter följt av 30 cykler bestående av 94 °C i 30 sekunder, 55 °C i 30 sekunder, 72 °C i 30 sekunder samt en avslutande extension i 72 °C i 7 minuter. Den amplifierade mängden DNA ökar exponentiellt och efter trettio cykler har en amplifiering på 2³⁰ inträffat. PCR-produkterna analyserades med gelelektrofores.

Tabell 3. Nukleotidsekvenser som användes som primers och hänvisande referenser.

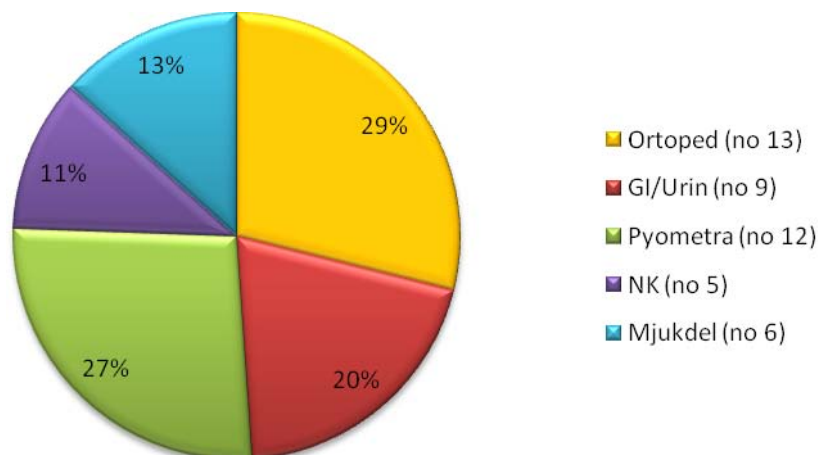
Primer	Sekvens	Referens
SI _{nuc1}	5'-CAATGGAGATGGCCCTTTA-3'	Baron et al. (2004)
SI _{nuc2}	5'-AGCGTACCGTTCATCTCTTG-3'	
SA _{nuc1}	5'-TGCTATGATTGTGGTAGCCATC-3'	Baron et al. (2004)
SA _{nuc2}	5'-TCTCTAGCAAGTCCCTTTTCCA-3'	
16S1	5'-GGACGGGTGAGTAACACGTGG-3'	Strommenger et al. (2003)
16S2	5'-TCCCGTAGGAGTCTGGACCGT-3'	
mecA1	5'-AAAATCGATGGTAAAGGTTGGC-3'	Martineau et al. (2000)
mecA2	5'-AGTTCTGCAGTACCGGATTGTC-3'	

RESULTAT

Fyrtiofem hundar varav tjugosju tikar och arton hanar ingick i studien. Åldern varierade mellan sju månader och tretton år. Medelåldern var 5,7 år.

Fördelningen av de 45 operationer som ingick i studien presenteras i figur 1.

Av dessa utfördes fem operationer på jourtid (fyra pyometraoperationer och en magomvridning).



Figur 1. Fördelningen av de 45 operationerna som ingick i studien. GI/ Urin = operationer som involverar mag-tarmkanal eller urinorgan. NK = kastration. Mjukdel = operationer som involverar hud t.ex. juvertumörer.

Sex av fyrtiofem hundar (13 %) var MRSP-positiva i något/några av de prover som togs under studien.

Resultaten av de bakteriologiska provtagningarna presenteras i tabell 4 och 5.

Tabell 4. Provtagningarna Bärarprov 1 och Bärarprov 2 samt Övrigt sår och antalet MRSP-positiva prover.

	Bp1	Bp2	Ös
MRSP positiva	1	5	0
Totalt antal prov	45	39	7

Bakterierna som odlats fram från operationsproverna har då det inte rört sig om stafylokocker identifierats okulärt av laboratoriepersonal med erfarenhet inom området.

Tabell 5. Bakterieförekomst från de olika provtagningarna. Har någon form av stafylokker identifierats har ingen annan växt registrerats.

Prov	Op1	Op2	Op3	Op4
<i>S. aureus</i>				1
<i>S. pseudinterm.</i>	2	2	2	5
<i>S. schleiferi</i>		2	2	
Koagulas neg. stafylocock	1	6	18	15
<i>Bacillus</i> spp.	1	2	2	2
<i>Proteus</i> spp.			1	1
<i>Pseudomonas</i> spp.				1
oidentifierade	7	4	14	9
MRSP-positiva	0	0	1	1
Totalt antal prov	44	44	45	34

Alla stammar som var *mecA* positiva var stammar som bekräftats vara *S. pseudintermedius* genom identifiering av *nuc*-genen. De MRSP-positiva patienterna hade genomgått ortopedisk kirurgi eller juvertumöroperation. Två av ortopedipatienterna hade genomgått korsbandsoperationer i form av ”tibial plateau leveling ostetomi” (TPLO) och en hade genomgått en hasledsartrodes. De MRSP-positiva hundarna, deras ålder, operationen de genomgått, huruvida de antibiotikabehandlats och i vilket/vilka prover de var positiva åskådliggörs i tabell 6.

Tabell 6. Information angående de MRSP-positiva hundarna avseende ålder, operation de genomgått, längd på sjukhusvistelse, antibiotikabehandling samt vilket/vilka prover de varit positiva i.

Hund	Ålder (år)	Operation	Sjukhusvistelse	Antibiotikabehandlad	Positiv
1	9	Juvertumör	1 dygn	2 månader innan op	Bp2
2	3	TPLO	2 dygn	perioperativt	Bp2
3	5	Hasledsartrodes	1 dygn	perioperativt	Bp2
4	2	TPLO	1 dygn	perioperativt	BP1, Op3, Bp2
5	11	Juvertumör	1 dygn	9 dagar innan op	Bp2
6	9	Juvertumör	1 dygn	8 dagar postop	Op4

DISKUSSION

I denna studie har sex hundar av 45 varit positiva för MRSP, ingen hund var positiv för MRSA. Orsaken till att just dessa sex hundar drabbats kan vara olika.

Antibiotika

Alla de sex hundarna har blivit behandlade med antibiotika före, under eller efter sin vistelse på djursjukhuset.

Preoperativt

Hund 1 opererades för juvertumörer vilket var hennes andra operation inom en relativt kort tid. Två månader innan denna operation hade tiken genomgått en liknande operation och hade då fått en infektion i operationssåret som resulterade i att hon behandlades med amoxicillin kombinerat med klavulansyra. Odlingen visade en sparsam växt av *S. pseudintermedius*. Både antibiotikabehandling och sjukhusvistelse är riskfaktorer för att koloniserar med meticillinresistenta stafylokocker (Malik et al., 2005, Miller et al., 2009, Tacconelli et al., 2008.).

Även hund 5 antibiotikabehandlades. Nio dagar innan operationen behandlades tiken med amoxicillin då en av juvertumörerna verkade infekterad. Ingen odling gjordes vid det tillfället.

Hund 4 hade en anamnes av hudproblem och hade antibiotikabehandlats samt stått på kortisonbehandling för detta tidigare. Hundar som besväras av pyodermier kräver ibland längre antibiotikabehandling för att bli av med besvären. Förutom den underliggande orsaken som exempelvis fukteksem är det oftast, under svenska förhållanden, *S. pseudintermedius* som isoleras vid provtagningen (Bergvall et al., 2002). Vid antimikrobiell behandling krävs det oftast ett antibiotika som är -laktamas-stabilt. Vid långa behandlingar med preparat som t.ex. klindamycin ökar risken att selektera för multiresistens inklusive meticillinresistens (Guardabassi et al., 2003). Hund 4 hade endast antibiotikabehandlats en gång för sina hudproblem (enligt journal på detta djursjukhus) och detta var mer än sex månader före operation.

Perioperativt

De hundar som genomgick ortopediska operationer fick alla profylaktisk antibiotika perioperativt. Hundarna opererades i mer än två timmar och fick två doser cefalotinnatrium (första generationens cefalosporin) intravenöst under tiden de var sövda.

I en studie gjord på patienter som skulle genomgå hjärtkirurgi, togs bärarprov dagen före operation, dagen efter samt en vecka efter operationen (Archer G.L. & Armstrong B.C., 1984). I den studien fann man att profylaktisk antibiotikaanvändning påverkade bärarskapet av både koagulasnegativa och koagulaspositiva stafylokocker och man såg att resistens utvecklades främst bland de koagulasnegativa stafylokockerna. Författarna menar att det inte var en fråga om en smitta utan det rörde sig om en mutation. Skulle studien göras om i dagens läge skulle resultaten kanske se annorlunda ut men den bevisar att en viss rubbning sker i normalfloran. Vid en operation som TPLO, som kan liknas vid en knäledsoperation på människa där infektionsrisken ligger på mellan 0,5-5 % och kostar samhället och patienten

mycket lidande (Campoccia et al., 2005), får man väga riskerna för och emot profylax. För en hund kan en svårbotad infektion leda till avlivning.

Postoperativt

Hund 6 fick komplikationer efter sin juvertumörsoperation. Åtta dagar efter operationen sövdes hunden och en drän lades. En odling togs i samband med detta som inte påvisade annat än en sparsam växt av *S. schleiferi*. Hunden sattes i samband med detta på antibiotikabehandling i form av amoxicillin, som sannolikt möjliggjorde för MRSP.

Typ av operation

Både de ortopediska operationerna och juvertumörsoperationerna var långa operationer. Det finns då risk att patienten blir cirkulatoriskt nedsatt och således tillfälligt immunosupprimerad. Dessutom ökar riskerna för försämrat immunförsvar ju längre tid narkosen varar som redan diskuterats tidigare i detta arbete. Stora hudområden har även blivit rakade och steriliserade (särskilt vid juvertumörsoperation). Detta medför att hundens hudflora genomgår en stor omställning, vilket ger ett helt nytt område, som saknar en skyddande normalflora när sedan hunden kommer till stationärvårdsavdelningen och bandagen avlägsnas (personlig kommunikation med Christina Greko 2010-01-11).

Tidigare sjukhusvistelse

Hund 1 hade, som tidigare nämnts genomgått en liknande operation på samma djursjukhus några månader tidigare och hund 4 hade genomgått en kastration några månader innan hans TPLO.

Val av kolonier

Vid odling av bakterier på MAST och blodagarplatta har fem kolonier som regel plockats. Vid riklig växt av stafylokocker kan det slumpa sig att de kolonier som plockas inte är meticillinresistenta, utan vanliga *S. pseudintermedius* och *S. aureus*. Det kan således betyda att exempelvis hund 1 var MRSP positiv redan i Bp1 men att de kolonier av *S. pseudintermedius* som isolerades helt enkelt inte var de "rätta".

Faktorer i operationssalen

Studien gick ut på att identifiera meticillinresistenta stafylokocker och proverna anrikades i buljong med antibiotika. Trots det växte det på många av proverna från operationsavdelningen. Det skulle vara intressant att göra en studie, utan anrikning, för att se vad som verkligen växer i operationsområdet. Anledningen till att bakterier fanns efter noggrann tvätt kan vara många. Huden är inte ett sterilt område och vid rakning kommer bakterier upp som legat i t.ex. hårfolliklarna. Op1 provet har tagits efter första sprittvätten och vid stressiga tillfällen har inte alltid spriten hunnit torka/dunsta vilket kan betyda att den inte haft sin fulla effekt. Endast en hund fick infektion i sitt operationssår. Bakterierna som odlades fram i Op1 proverna avlägsnades antagligen av sista steriltvätten eller så tog kroppens eget försvar hand om dem.

Antal personer i operationssalen

Under sommarmånaderna, då de flesta av proverna togs, var det många vikarier på kliniken. Vikarierna behövde ofta komma in på operationsavdelningen och fråga de mer erfarna kirurgerna vilket ökade flödet av personer i operationslokalerna. Det var heller inte alltid alla kom ihåg munskydd och huvudskydd. Hur mycket ett munskydd skyddar är inte heller helt fastställt. I ett, ännu inte publicerat, experiment gjort på en bärare av MRSA, ställde man agarplattor i ett rum där han fick vistas. På agarplattorna växte det inga MRSA. Då försökspersonen infekterades med ett rhinovirus utsöndrade mannen mängder av MRSA (muntlig kommunikation med Engeline van Duijkeren, 2009-09-24, London, England). En studie där parametrar så som antal personer i rummet, hur många gånger dörren till operationssalen öppnas och operationens längd samt hälsostatus på personalen i samband med provtagning skulle vara ett mycket stort men intressant projekt.

Miljöprover

Ett parallellt EEF-arbete har under året pågått där prover tagits i miljön på djursjukhuset. Av speciellt intresse är att meticillinresistenta stafylokocker hittades på bl.a. akutmottagningen (Gustafsson, 2010). Inga av de akutoopererade patienterna har blivit positiva i några av de prover som tagits avseende meticillinresistenta bakterier, trots att de spenderade tid på de ytor där dessa påvisades. Anledningen till detta kan vara att städningen varit bra vid dessa tillfällen eller att hunden inte varit mottaglig för smitta. I den operationssal där ortopedisk kirurgi utförs isolerades MRSA i miljöstudien. Inga MRSA har isolerats på någon hund i denna studie. På stationärvårdsavdelningen identifierades MRSP på flera ytor, både där personal och djur vistas. Även om inte människor naturligt är bärare av bakterien kan de via kläder och händer och andra redskap överföra bakterien mellan patienterna. Hund 2 och 3 låg bredvid varandra på stationärvårdsavdelningen. De opererades med en dags mellanrum och då de båda är stora hundar kan de också ha legat i samma uppvakningsbur på operationsavdelningen. Miljöprover är ett bra sätt att öka medvetenhet om hygien och smittspridning, vilket bevisades av de omprover som togs några månader senare som visade en minskad kontamination av de provtagna ytorna (Gustafsson personlig kommunikation 2010). Städning är dock en färskvara.

Tillfällig kontamination

En möjlig felkälla att beakta är den att hunden skulle kunna nosat upp MRSP i exempelvis väntrummet eller i undersökningsrummet på djursjukhuset. Vid Bp1 var tiden i väntrummet minimal innan provet togs medan väntetiden för stygntagning kunde vara upp till en halvtimme. Vid en längre väntetid är risken större att hunden nosat runt, kanske legat där en annan hund just legat, slickat sig om tassarna när den just gått in genom den dörr många andra hundar gått igenom. Hund 4 var den enda hund som var positiv redan på Bp1 men var sedan positiv i Op3 och Bp2 också och risken att denna hund var tillfälligt kontaminerad var mycket liten. Hunden gick på hunddagis och risken finns att smittan kommit därifrån. Hunden har stått på en längre kortisonbehandling för hudbesvär och det kan ha påverkat hundens immunförsvar så

att den blivit mer mottaglig för smitta (Tizard, 2004). Hund 3 inkom på remiss och återkom inte för stygntagning. Provet togs på en veterinärklinik och skickades till laboratoriet. Det finns en risk att MRSP funnits på denna veterinärklinik eller i hundens omgivning och det var fråga om en tillfällig kolonisation och inte en smitta från djursjukhuset. Hund 2 och 5 inkom för stygntagning och kan således blivit tillfälligt kontaminerade i väntrum eller undersökningsrum. Båda dessa hundar lever i hundrika miljöer och det går inte att utesluta att de träffat på bakterien på annat håll. Hund 6 var inte positiv i något av sina bärarprov men i sitt operationssår. Tiken kan vara en av smittspridarna då hon har legat i väntrummet flera gånger utan skydd för såret då det inte var känt vilken bakterieflora hon bar på. Hund 1 inkom aldrig för stygntagning då hennes ägare själv tog stygnen och proven hemma.

Betydelse för hundarna

Ingen av de positiva hundarna hade några kliniska symtom av sitt bärarskap. Hund 6 hade en infektion i sitt operationssår som avläkte efter dränläggning. Varför är då MRSP så farligt? Säkerligen finns det åtskilliga MRSP bärare som inte har några kliniska symtom och inte heller någon vetskap om sitt bärarskap. I Elin Reimegårds studie (2008), där 23 hundar som diagnosticerats med en MRSP infektion, var 77 % av dessa negativa efter 6-13 månader. Vissa blev negativa redan efter två månader. Mekanismerna som gör att vissa hundar blir bärare längre är inte kända. Blir hundarna däremot sjuka, kan problem uppstå. Klarar inte kroppens eget försvar av infektionen finns inte effektiva antibiotika. Ett djursjukhus är således inte det stället där man vill ha en MRSP-spridning. Här finns redan sjuka djur som är nedsatta och kanske under behandling med antibiotika. *Staphylococcus pseudintermedius* är inte en mer virulent bakterie än andra men får den fritt spelrum då övrig flora slås ut kan den göra stor skada. För ett djursjukhus är det viktigt att alltid ha det i åtanke att ett bärarskap inte syns. En hund med en långvarig anamnes av pyodermi kan vara en potentiell bärare trots att den inte för tillfället uppvisar några kliniska symtom. Även hundar som tidigare varit inskrivna och kanske antibiotikabehandlade kan också ses som potentiella bärare.

Bortfall av prov

Det är vanligt att data saknas i kliniska studier. I denna studie är det relaterat till mänskliga faktorer då prover ej tagits enligt plan. Inga data har förlorats i samband med odling.

MRSP i Sverige

En viktig fråga i detta sammanhang är om infektioner med MRSP ökat de senaste åren eller om medvetenheten och provtagningsrutinerna har ökat. SVAs bakteriologiska enhet har de senaste tio åren resistensbestämt alla stafylokocker som inkommit för odling, vare sig det efterfrågats eller inte, och det är en sann ökning av MRSP i landet (Ingrid Hansson, muntlig kommunikation 2009-12-02). Under 2009

(2009-01-01-2009-12-01) har SVAs laboratorium bedömt 58 stammar som MRSP positiva. Provtagningen på smådjur och häst har också ökat markant. År 2000 inkom 6 560 prover till SVA och fram till 2009-11-16 inkom det 10 665 prover för odling. Dock kan inte en direkt jämförelse göras då man före år 2006 klassade två prover från samma djur som ett, medan man nu räknar dem som två. Trots antibiotikapolycyn, som antogs 2002, låg förskrivningen av antibiotika år 2006 på 400 recept per 1 000 hundar (SVARM, 2008) och sedan dess har den minskat med 11 %.

Vidare studier

Den oidentifierade bakterien

Några av de stammar som var misstänkta *S. aureus* och *S. pseudintermedius* och således var trehalospositiva uppvisade inte *nuc*genen på PCR-analys men 16S rRNA-genen för stafylokocker. *Staphylococcus shleiferi subspecies coagulans* är sällan trehalospositiv men det har rapporterats sådana fall (personlig kommunikation Stephen Kania, AMS kongress, London, England 2009-09-24). *Staphylococcus schleiferi* har i USA blivit ett växande kliniskt problem. Idag orsakar bakterien djupare pyodermier (gruppsamtal på AMS kongress om MRS, London, England 2009-09-24) som ofta kräver antibiotikabehandling. I kommunikation med SVAs bakteriologiska enhet (personlig kommunikation Ingrid Hansson 2009-12-04) tycker de sig se en ökad frekvens av penicillinproducerande stammar av *S. schleiferi* som nästan aldrig sågs förr.

PCR med primers specifika för *S. schleiferi* följt av sekvensering kan ge svar på frågan vilken bakterie det rör sig om.

Personalhundarna

Personalhundarna passerar varje dag stallarna där de kirurgiskt och medicinskt behandlade patienterna förvaras. Eftersom fem hundar i denna studie blivit bärare utan att visa symptom, betyder det att vilken hund som helst kan vara bärare. Ett bärarskap kan vandra runt bland personalhundar med risk för överföring till patienthundar där det kan få kliniska konsekvenser. Ett intressant projekt vore att ta prov på personalhundar. Bör man överhuvudtaget ha personalhundar i samma byggnad om de är potentiella smittspridare?

Släktskapsundersökning

För att studien egentligen skall kunna bevisa något mer än att det finns MRSP på kirurgiskt behandlade hundar måste det göras uppföljande undersökningar.

Typning måste göras av de isolat som hittades i miljöstudien och de som isolerades från hundarna för att se om de är av samma subtyp. Detta kan göras på olika sätt. Ett sätt är att använda sig av pulsfältsgel-elektrofores (PFGE) då man med hjälp av restriktionsenzym bryter upp DNA och kan avläsa de olika DNA-banden på en gel (El Zubier et al., 2007). PFGE-typer med nära släktskap kommer ha nära nog identiska band på gelen.

Det andra sättet är att använda sig av PCR och analysera ”stafylokokk-protein A” (*spa*) genen för *S. pseudintermedius* (Moodley et al., 2009). Om vidare utredning

visar att de smittade hundarna bär på samma subtyp som isolerades från djursjukhuset är det ett starkt argument för att de blev bärare av bakterien där.

LITTERATURFÖRTECKNING:

- Archer G.L. & Armstrong B.C. 1983. Alteration of Staphylococcal flora in Cardiac Surgery Patients Receiving Antibiotic Prophylaxis. *Journal of Infectious Diseases*, 4, 642-649
- Bergvall K., Bohlin H., Greko C., Hoppe A., Ingvast Larsson C., Mannerfelt T. Odensvik K. & Wellander M. Antibiotikapolicy för hund och kattsjukvård 2002-01-28 (<http://www.svf.se/upload/antibiotikapolicy.pdf>)
- Brand J.M., Kirchner H., Poppe C. & Schmucker P. 1997. The Effects of General Anesthesia on Human Peripheral Immune Cell Distribution and Cytokine Production. *Clinical Immunology and Immunopathology*, 83, 190-194
- Brown D. C., Conzemius M.G., Shofer F. & Swann H. 1997. Epidemiologic evaluation of postoperative wound infections in dogs and cats. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 210, 1302-1306
- Campoccia D., Montarnaro L. & Arciola C.R. 2006. The Significance of infection related to orthopedic devices and issues of antibiotic resistance. *Biomaterials*, 27, 2331-2339
- van Duijkeren E., Houwers D.J., Schoormans A. Broekhuizen-Stins M.J., Ikawaty R. Fluit A.C. & Wagenaar J.A. 2008. Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus intermedius* between humans and animals. *Veterinary Microbiology*, 128, 213-215
- Egenvall A., Hagman R., Bonnett B.N., Hedhammar A., Olson P. & Lagerstedt A.S. 2001. Breed risk of pyometra in insured dogs in Sweden. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 15, 530-538
- El Zubier I.E.M., Kanbar T., Alber J. Lämmle C., Akinden Ö. Weiss R. & Zschöck M. 2007. Phenotypic and genotypic characteristics of methicillin/oxacillin-resistant *Staphylococcus intermedius* isolated from clinical specimens during routine veterinary microbiological examinations. *Veterinary Microbiology*, 121, 170-176
- Eugster S., Schawalder P., Gaschen F. & Boerlin P. 2004. A prospective study of postoperative surgical site infections in dogs and cats. *Veterinary Surgery*, 33, 542-550
- Fossum T.W., Hedlund C., Johnson A.L., Schulz K.S., Seim III H.B., Willard M.D., Bahr A. & Carroll G.L. (2007) *Small animal surgery*, 3rd edition. Missouri: Mosby (ISBN: 978-0-323-04439-4)
- Guardabassi L., Loeber M.E. & Jacobsen A. 2004. Transmission of multiple antimicrobial-resistant *Staphylococcus intermedius* between dogs affected by deep pyoderma and their owners. *Veterinary Microbiology*, 98, 23-27
- Gustafsson C. 2010. Förekomst av meticillinresistenta *Staphylococcus spp* i djursjukhusmiljö. Examensarbete. ISSN: 1652-8697
- Klevens R.M., Morrison M.A. & Nadle J. 2007. Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the United States. *Journal of American Medical Association*, 298, 1763-1771
- Leaper D.J. & Melling A.G. 2001. Antibiotic Prophylaxis in Clean Surgery: Clean Non-Implant Wounds. *Journal of Chemotherapy*, 13, 96-101
- Lefebvre S.L., Reid-Smith R.J. Waltner-Toews D. & Weese J.S. 2009. Incidence of acquisition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Clostridium difficile*, and

- other health-care-associated pathogens by dogs that participate in animal-assisted interventions. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 11, 1404-1417
- Malik S., Peng H. & Barton M.D. 2005. Antibiotic resistance in staphylococci associated with cats and dogs. *Journal of applied Microbiology*, 99, 1283-1293
- Miller M., Cook H.A., Furuya E.Y., Bhat M., Lee M., Vavagiakis P., Visintainer P., Vasquez G., Larson E. & Lowy F.D. 2009. *Staphylococcus aureus* in the Community: Colonization Versus Infection. *PLoS ONE*, 4, (8):e6708
- Moodley A., Stegger M., Ben Zakour N.L. & Guardabassi L. 2009. Tandem repeat sequence analysis of staphylococcal protein A (*spa*) gene in methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. *Veterinary Microbiology*, 135, 320-326
- Nicholson M., Beal M., Shofer F. & Brown D.C. 2002. Epidemiologic evaluation of postoperative wound infection in clean-contaminated wounds: a retrospective study of 239 dogs and cats. *Veterinary Surgery*, 31, 577-581
- Piermattei, D.L and Johnson K.A. (2004) *An atlas of surgical approaches to the bones and joints of the dog and cat*. 4th edition. Pennsylvania: Saunders. (ISBN: 0-7216-8707-5)
- Plumb D.C. (2008) *Veterinary drug handbook*, 6th edition. Iowa: Blackwell publishing. (ISBN: 978-0-8138-1097-3)
- Reimegård E., Bärarskap av Methicillinresistent *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) hos svenska hundar. Examensarbete. Sveriges Lantbruksuniversitet. 2008:66
- Rang H.P., Dale M.M., Ritter J.M. & Moore P.K. (2007) *Rang and Dale's Pharmacology*, 6th edition. Philadelphia: Elsevier (ISBN: 080923544)
- SVARM, (2008) www.sva.se
- STRAMA, Om Antibiotikaresistens och svenska djur 2007; en rapport från STRAMA. www.strama.se
- Taconelli E., De Angelis G. Cataldo M.A., Pozzi E. & Cauda R. 2008. Does antibiotic exposure increase the risk of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolation? A systematic review and meta-analyses. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 61, 26-38
- Tizard I.R. (2004) *Veterinary Immunology an introduction*, 7th edition. Philadelphia: Elsevier (ISBN: 0-7216-0136-7)
- Weese J.S. 2008. A review of post-operative infections in veterinary orthopedic surgery. *Veterinary Comparative Orthopaedics & Traumatology*, 21, 99-105

Bilaga 1

Kirurgens och assistentens tvättinstruktioner

Händer och underarmar sköljs under rinnande vatten.

Naglarna skall vara rena och kortklippta innan tvätten påbörjas men rengörs med nagelpetare innan intvålning med flytande tvål; Dags Allroundtvål (Opus HealthCare AB, Malmö).

Tvåla in och skölj händer och underarmar tre gånger. Håll händerna så att vattnet rinner från händerna mot armbågarna.

Tvätta en fjärde gång men denna gång endast händer.

Torka torrt.

Desinficera händer och underarmar med alkoholbaserat desinfektionsmedel, Sterillium Classic Pure (Bode Chemic, Hamburg), under minst tre minuter.

Om huden blir torr under dessa tre minuter appliceras mera sprit.

Avsluta med att endast sprita händerna och låt dessa självtorka.

Händerna och underarmar skall vara torra innan påklädsel.