

Slutrapport

Vankomycinresistenta enterokocker (VRE) hos svensk slaktkyckling

Slutrapporten sammanfattar de två SLF projekten X0643008 & H0943056 enligt medgivande av SLF 2009-11-16 i Bidragskontrakt H0943056 Kst. 430.

Bakgrund

Vad är problemet?

Vankomycinresistenta enterokocker (VRE) är betydelsefulla som orsak till sjukhusassocierade infektioner hos människor. VRE hos animalieproducerande djur anses ha betydelse för resistensläget i sjukvården genom att människor exponeras via livsmedel som vid slakt kontaminerats med VRE från djurens tarmflora. Exponeringen kan leda till tillfälligt bärarskap av VRE från djur i den humana tarmfloran och att resistensgener (*vanA*) då förs över till enterokocker anpassade till människor. VRE hos djur är alltså en reservoar av resistensgener som bör minimeras. Problematiken beskrivs mer ingående i "Bilaga".

Doktorandprojekt

Med anledning av att VRE påvisats i ökande frekvens hos svensk slaktkyckling har SVA tillsammans med Svensk Fågel genomfört undersökningar för att utreda omfattningen, epidemiologiska förhållanden och möjliga orsaker till ökningen. Men för att samordna undersökningarna avseende VRE hos svensk slaktkyckling sökte SVA hos SLF 2006 medel för delfinansiering av ett fyraårigt doktorandprojekt. Avsikten var att finna infallsvinklar för reduktion av förekomst och spridning av VRE hos slaktkyckling.

Projektet (X0643008) beviljades medel för tre år (totalt 900 000 SEK). För att slutföra doktorandprojektet söktes (H0943056) och beviljades 2009 ytterligare medel för ett år (300 000 SEK). Denna slutrapport sammanfattar de två projekten.

Material/Metoder & Resultat

I den ursprungliga forskningsansökan skissades undersökningar enligt 1-3 nedan. Arbetet påbörjades i januari 2007 då veterinär Oskar Nilsson (ON) rekryterades som doktorand och slutfördes i juni 2011 då Oskar försvarade sin avhandling vid SLU.

1. Epidemiologiska undersökningar

Enligt intentionerna i projektansökan skulle det epidemiologiska förloppet vid kolonisation av insatta fåglar och möjliga introduktionsvägar för VRE undersökas. Kunskap om detta är viktig för hur begränsande åtgärder ska utformas. Två större studier har genomförts.

Dessutom har förekomsten av VRE hos svensk broiler undersökts enligt rutinerna i SVARM.

- **Epidemiologiskt förlopp inom besättning:** I fyra produktionsanläggningar undersöktes april 2007 - januari 2008 prover från stallmiljön. I varje avdelning på en anläggning togs prov vid sju tillfällen under en uppfödningssomgång och odlades med selektiv metodik för VRE. Blindtarmsinnehåll från enskilda fåglar i efterföljande flock undersöktes för VRE. En av de fyra gårdarna utgick ur studien pga. ofullständig provtagning.

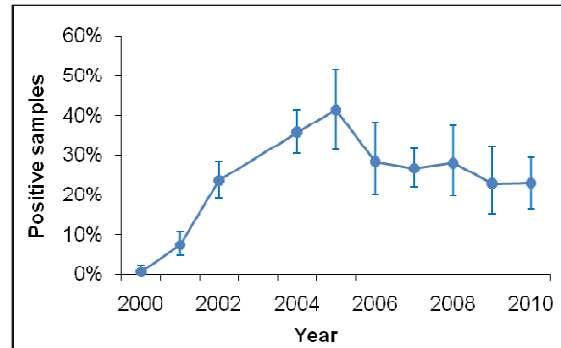
Resultat: VRE fanns i stallmiljön på alla gårdar men antal positiva prov och mängden bakterier i positiva prov varierade mellan gårdarna. Även andelen fåglar koloniserade med VRE vid slakt varierade och syntes associerad till mängden VRE i miljön. Resultaten antyder att kolonisationsgraden hos fåglarna minskar om mängden VRE i miljön vid insättning minskas. Slumpvis utvalda isolat från gårdarna tillhörde alla den klon (ST310) som dominerar i Sverige (se nedan). Resultaten presenterades i en artikel i *Acta Veterinaria Scandinavica*.

- **Smittvägar:** Under 2007/2008 undersöktes 112 prover av kommersiellt slaktkycklingfoder, 60 prover från kläckierier samt 25 prover från hel-vete silos för förekomst av VRE med selektiv odlingsmetod. Alla prover var negativa avseende VRE.
Resultat: Ett kontinuerligt inflöde av VRE till gårdarna via foder eller daggamla kycklingar är osannolikt. Resultaten har presenterats som en poster på 4th Med-Vet-Net Annual Scientific Meeting i St Malo, Frankrike 2008 och diskuteras i ONs avhandling.

- **VRE förekomst på nationell nivå:** Förekomsten av VRE hos svensk slaktkyckling undersöks regelbundet i övervakningsprogrammet SVARM genom selektiv odling av blindtarmsinnehåll från slaktade kycklingar på medium med tillsats av vankomycin (16 mg/L). Antal undersökta prov har varit 99–351 per år. Under 2008 och 2009 gjordes dessa undersökningar inom ramen för doktorandprojektet.

Resultat: Resultatet av undersökningarna presenteras i figuren till höger. 95 % konfidensintervall är angivet.

Undersökningarna visar att förekomsten av VRE hos svensk slaktkyckling planat ut efter en kraftig ökning under de första åren av 2000-talet. Resultaten har årligen publicerats i SVARM-rapporten.



2. Egenskaper hos VRE från svensk slaktkyckling

VRE från svensk slaktkyckling karakteriserats på olika sätt. Detta för att förstå varför VRE finns kvar i slaktkycklingproduktionen i avsaknad av direkt selektionstryck och för att finna angreppspunkter för att minska förekomsten har. Eftersom risken med VRE hos slaktkyckling är överföring av *vanA*-genen till enterokocker hos människor har också isolatens förmåga att överföra vankomycinresistens undersökts.

- **”Släktskap” mellan VRE:** VRE från olika anläggningar och över tid undersöktes med molekylärbiologisk epidemiologisk typning - MLST (multi locus sequence typing). Isolat som undersöktes var de två första, från år 2000, samt 46 slumpvis utvalda isolat från åren 2001 till juni 2007.

Resultat: Alla 46 slumpvis utvalda isolat visade sig ha samma sekvenstyp (ST310). De två isolaten från 2000 var av andra sekvenstyper (ST13 och ST370). Studien visar att ökad förekomst av VRE beror på spridning av en bakterieklon. Resultatet presenterades i en poster vid ECCMID 2008 i Barcelona, Spanien och i en artikel i *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2009.

- **”Överlevnadsegenskaper” – fenotypisk ”fitness”:** Överlevnadstid, tillväxthastighet, förmåga att tillväxa i extrema betingelser (temperatur, salthalt, pH) samt känslighet för desinfektionsmedel har undersökts i laboriemiljö (*in vitro*). Den dominerande klonen (ST310) jämfördes med andra VRE från svensk slaktkyckling (ST13 och ST370) och med ett isolat av *E. faecium* som är känsligt för vankomycin.

Resultat: ST310 skiljde sig inte från de andra isolaten avseende undersökta parametrar. Samtliga stammar var känsliga för desinfektionsmedel som används i Sverige (Virkon®S och Glu-Cid). Studien gav därmed inga uppslag till varför ST310 är mer framgångsrik än andra VRE som förekommit hos svensk slaktkyckling. Delar av resultaten är, tillsammans med resultaten av desinfektionsförsöket (se nedan), sammanställda i ett manuskript som ingår i ON:s avhandling och som under 2011 ska sändas för publicering i vetenskaplig tidskrift.

- Diversitet bland VRE: Ett mindre antal av de VRE som isolerats från slaktkyckling sedan 2000 har ett annat resistensmönster än den dominerande klonen - ST310. Detta tyder på att andra kloner än den dominerande ST310 och de två först påvisade ST13 och ST370 finns bland svensk slaktkyckling. För att undersöka detta utfördes epidemiologisk typning med MLST av totalt 26 VRE-isolat från åren 2000-10.

Resultat: De 26 isolaten kunde delas in i 8 olika kloner baserat på ST-typ och i 11 olika typer baserat på MLST och resistensmönster (klonrepresentanter). Detta visar att inte bara den dominerande klonen förekommer vilket stöder antagandet att ST 310 har egenskaper som gör den till en "överlevare". Resultaten är, tillsammans med resultaten de molekylärbiologiska studierna beskrivna nedan, sammanställda i ett manuskript som ingår i ONs avhandling och som under 2011 ska sändas för publicering i vetenskaplig tidskrift.

- Lokalisation och överförbarhet av *vanA*-genen: Överförbarheten av vankomycinresistens undersöktes med "filter mating" hos ett isolat av var och en av de 11 klonrepresentanterna (se ovan). Dessutom utfördes transposon- och plasmidtypning av de 11 isolaten och av transkonjuganter efter överföring.

Resultat: Sex av de 11 klonrepresentanterna, inkluderande ST 310, överförde *vanA*-genen. Hos klonrepresentanter och transkonjuganter påvisades plasmider och transposoner av typen *Tn1546*. Studien visar att VRE som finns hos svensk slaktkyckling kan överföra resistensgener till andra enterokocker.

- "Överlevnadsegenskaper" – "plasmid addiction" system: Förekomsten av sk "plasmid addiction" system undersöktes med PCR hos de 11 klonrepresentanterna (se ovan). Förekomst av sådana system skulle kunna vara en orsak till att vankomycinresistens kvarstår hos ST 310 trots att inget selektionstryck föreligger.

Resultat: "Plasmid addiction" system påvisades endast hos en av klonrepresentanterna men inte hos den dominerande klonen. Systemet fördes inte heller över till transkonjuganten tillsammans med vankomycinresistensen. Sådana system tycks alltså inte vara betydelsefulla för persistens av ST 310.

- "Överlevnadsegenskaper" – nedsatt känslighet för narasin: Känsligheten för antibiotika hos donator- och recipientisolat liksom hos transkonjuganter i överföringsförsöken beskrivna ovan bestämdes med mikrodilution.

Resultat: Hos fyra av de sex isolat som överförde vankomycinresistens överfördes samtidigt nedsatt känslighet för narasin. Narasin är ett antibiotikum som har stor användning för att förebygga koccidios hos slaktkyckling genom inblandning i foder under en del av uppfödningstiden. Möjligen kan användning av narasin gynna förekomsten av *vanA* genen hos enterokocker hos slaktkyckling.

3. "Competitive exclusion" - Desinfektion.

I den ursprungliga projektplanen var avsikten att undersöka om förekomsten av VRE kan minskas med probiotika eller tarmflorakultur. Men en pilotstudie före projektstart tydde inte på att detta skulle vara verksamt. Projektgruppen beslutade därför våren 2009 att istället undersöka om förekomsten av VRE kan minskas med desinfektion.

- 1. Desinfektionsförsök. I två besättningar provades en metod där formaldehyd (formalin) och vatten värms upp till ca 160°C och administreras i kycklingstallet som en het dimma med 100 % relativ fuktighet (fogging). Foggingen pågick under 4 h då temperaturen i stallet hålls vid 50 respektive 60°C. Tekniken används enligt uppgift med framgång vid salmonellasaneringar i Danmark.

Metoden provades på två gårdar som tidigare levererat kycklingar koloniserade med VRE till slakt. På varje gård användes metoden i ett hus (testavdelningar) efter rengöring enligt ordinarie rutin. Testavdelningarna jämfördes med likvärdiga avdelningar

(kontrollavdelningar) rengjorda på samma sätt men desinficerade enligt gårdarnas normala rutiner. Studien utvärderades som skillnad i andelen slaktkycklingar koloniserade med VRE före och efter försöket genom att tio blindtarmar per slaktgrupp undersöktes med selektiv odlingsmetod. Dessutom undersöktes förekomsten av VRE i miljön i avdelningarna före och efter försöket.

Resultat: Andelen miljöprov positiva för VRE efter interventionen var lägre i testavdelningarna än i kontrollavdelningarna. Resultaten gällande eliminering av VRE är inte helt entydiga eftersom andelen fåglar koloniserade med VRE minskade även i kontrollavdelningarna. Men studien talar för att den testade metoden skulle kunna vara användbar för att sanera gårdar för VRE och bör utvärderas ytterligare. Resultaten är sammanställda i ett manuskript som ingår i ON:s avhandling och som under 2011 ska sändas för publicering i vetenskaplig tidskrift.

Diskussion

En fullständig diskussion av resultaten i projektet ges i avhandlingen "Vancomycinresistant Resistant Enterococci in Swedish Broilers" som finns tillgänglig på SLU:s hemsida (<http://pub.epsilon.slu.se/8125/>). Nedan görs en summering av denna diskussion.

Undersökningarna i projektet har dokumenterat att VRE hos svensk slaktkyckling i huvudsak tillhör en klon (ST 310) och att den ökade förekomst som observerats i början av 2000-talet orsakades av spridning av denna klon. Situationen skiljer sig därmed från det som beskrivits från andra länder där flera kloner påvisats i kycklingproduktionen.

Specifika egenskaper hos den dominerande klonen som gör den till en "överlevare" har inte kunnat definieras eller beskrivas. Därmed har projektet inte klarlagt varför VRE hos svensk slaktkyckling domineras av en klon eller varför den spreder. Men studierna har visat att nedsatt känslighet för narasin förs över mellan enterokocker tillsammans med vankomycinresistens. Detta talar för att egenskaperna är kopplade till samma genetiska element och därmed skulle den utbredda användningen av narasin som profylax för koccidios kunna vara en selektionsfaktor för vankomycinresistens. Detta är i flera avseenden nya forskningsrön som bör utredas vidare. Av stort intresse, såväl praktiskt som vetenskapligt, är att utreda om narasin är en selektor som håller kvar vankomycinresistens i kycklinguppfödningen.

Den VRE-klon som dominerar i svensk slaktkycklinguppfödning - ST 310 - bär *vanA*-genen på ett rörligt genetiskt element. Genen har *in vitro* kunnat föras över till andra enterokocker. Detta är i överensstämmelse med känd kunskap från andra länder och visar att förutsättningar finns att VRE hos svensk kyckling kan utgöra en reservoar av resistensgener som kan föras över till bakterier hos människor.

Undersökningar i tre besättningar visar att VRE finns kvar i stallmiljön efter ordinarie rengöring och desinfektion. Nyinsatta fåglar koloniserar sannolikt av denna residualsmitta och VRE hålls på så sätt kvar i en besättning från omgång till omgång. Detta är känt från utländska undersökningar. Sannolikt har smittan i stallmiljön också i svenska uppfödningar en central roll för att VRE ska hållas kvar. Någon introduktionsväg för VRE till besättningarna via daggamla kycklingar eller foder har inte påvisats trots omfattande provtagning i projektet. Undersökningar i projektet tyder dessutom på att graden av residualsmitta har betydelse för hur stor andel av kycklingarna som är koloniserade vid slakt.

Aktiva åtgärder för att eliminera VRE från slaktkycklingproduktionen har inte beskrivits men reduktion av residualsmitta i stallmiljön synes vara ett logiskt första steg. I projektet har visats att ordinarie rengöring och desinfektion inte är tillräckliga. Därför har en metod där formalin i ånga tillförs under hög temperatur provats. Den undersökta metoden inger förhoppningar om att effektiv desinfektion kan minska förekomsten av VRE men ytterligare studier behövs för att säkerställa om detta är en realistiskt och effektivt sätt att motverka VRE.

Publikationer från projektet

1. Nilsson, O., Greko, C., Top, J., Franklin, A., Bengtsson, B., 2009, Spread without known selective pressure of a vancomycin-resistant clone of *Enterococcus faecium* among broilers. *J Antimicrob Chemother* 63, 868-872.
2. Nilsson, O., Greko, C., Bengtsson, B., Englund, S. Genetic diversity among VRE isolates from Swedish broilers with the coincidental finding of transferrable decreased susceptibility to narasin. (manuscript).
3. Nilsson, O., Greko, C., Bengtsson, B. (2009). Environmental contamination by vancomycin resistant enterococci (VRE) in Swedish broiler production. *Acta Veterinaria Scandinavica* 51, 49.
4. Nilsson, O., Greko, C., Vågsholm, I., Bengtsson, B. Survival of vancomycin resistant *Enterococcus faecium* under laboratory and field conditions – a pilot study to investigate if eradication from broiler farms is possible? (manuscript).
5. Doctoral Thesis, *Vancomycin Resistant Enterococci in Swedish Broilers: Emergence, Epidemiology and Elimination*. Oskar Nilsson, Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Department of Clinical Sciences, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala. *Acta Universitatis agriculturae Sueciae*, 2011:51.

Övrig resultatförmedling

1. Nilsson, O. 2007, Veterinärkongressen. Föredrag om SVA:s forskning och aktuella rön avseende VRE.
2. Nilsson, O. 2007, Nordiska fjäderfämötet för veterinärer och konsulenter i Uppsala. Föredrag under en workshop om VRE i slaktkycklingproduktionen.
3. Nilsson, O. 2009. Seminarserie vid institutionen för Kliniska Vetenskaper (KV), SLU. Föredrag om SVA:s forskning och aktuella rön avseende VRE.
4. Nilsson, O., 2008. Varifrån kommer de vankomycinresistenta enterokockerna? Populärvetenskaplig artikel i tidningen Fjäderfä, nummer 7 2008.
5. Nilsson, O., 2011. Redovisning av ”Sanering av slaktkycklingstallar från vankomycinresistenta enterokocker (VRE) – en pilotstudie”. Populärvetenskaplig sammanfattning för offentliggörande på Jordbruksverkets hemsida.
6. Nilsson, O., Top, J., Greko, C., Franklin, A., Bengtsson, B., 2008. *Clonal spread of vancomycin-resistant enterococci (VRE) in Swedish broiler chickens*. Poster, 18th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Barcelona, Spain, April.
7. Nilsson, O., Greko, C., Franklin, A., Bengtsson, B., 2008. *Investigating potential sources of vancomycin-resistant enterococci (VRE) for broilers in Sweden*. Poster, 4th Med-Vet-Net Annual Scientific Meeting, St. Malo, France, June.
8. Nilsson, O., Finn, M. 2009. *Detection of additional MLST-types among VRE from Swedish broilers*. Poster, ESCMID Conference on Enterococci: from Animals to Man, Barcelona, Spain.
9. Nilsson, O. 2010. *Differences in ability to transfer resistance among vancomycin resistant enterococci from Swedish broilers*. Poster, 3rd International ASM Conference on Enterococci, Portland, Oregon, USA.

Ekonomisk redovisning/Finansiering

Doktorandprojektet har av SLF finansierats med totalt 1 200 000 SEK. Dessa medel redovisas i respektive slutrapport för projekten X0643008 & H0943056.

Bidragen från SLF (totalt 1 200 000 SEK) har inte täckt projektets totala kostnad som uppgår till cirka 2 250 000 SEK varav cirka 1 640 000 SEK utgör lönebidrag. För att täcka doktorandens lön under den tid doktorandprojektet pågick (februari 2007- juni 2011) har SVA tillskjutit 126 000 SEK av egna medel och 520 000 SEK via programmet SVARMPat. Detta är ett samarbetsprojekt mellan Svenska Djurhälsovården och SVA som finansieras av Jordbruksverket.

Dessutom medel för förbrukningsmateriel, kursavgifter, publiceringskostnader, resor mm i huvudsak finansierats av forskningsmedel som sökts och beviljats av andra bidragsgivare:

Sandbergs Fond, 2007	45 000 SEK
SVA:s forskningsfond, 2008	100 000 SEK
Albert Hjärre fonden, 2008	31 000 SEK
Kungliga Skogs och Lantbruksakademin, 2009	10 000 SEK
Kungliga Skogs och Lantbruksakademin, 2009	7 000 SEK
Med-Vet-Net, 2007	26 000 SEK
Sandbergs Fond, 2010	32 000 SEK
SJVs fond för "Bekämpande av smittsamma djursjukdomar", 2010	125 000 SEK
SLU:s fond för internationalisering av doktorandstudier, 2010	18 000 SEK
Totalt	<u>394 000 SEK</u>

Bilaga

Vankomycinresistenta enterokocker (VRE) hos svensk slaktkyckling

Vad är VRE?

Enterokocker är bakterier som normalt förekommer i tarmkanalen hos människor och djur. Under speciella omständigheter kan de förorsaka sjukdom hos människor med nedsatt motståndskraft^{2,3}. Infektionerna är oftast nosokomiala ("sjukhusinfektioner") och mest problematiska på sjukhusens intensivvårdsavdelningar. Vanligen är det enterokocker av species *Enterococcus faecium* eller *E. faecalis* som orsakar infektionerna². Infektioner orsakade av antibiotikaresistenta enterokocker kan bli mycket svårbehandlade. Enterokocker som förvärvat resistens mot vankomycin, VRE, utgör ett speciellt problem eftersom detta är ett "sista linjens" antibiotikum som används när andra substanser inte är verksamma. Vid infektioner med VRE är det därför svårt att hitta effektiva antibiotika.

VRE påvisades första gången hos människor i Frankrike 1988 och strax därefter i Storbritannien^{4,5}. Sedan dess har förekomsten av sådana infektioner på sjukhus ökat och de utgör nu ett betydande problem i många länder⁶. På svenska sjukhus är bakterierna fortfarande ovanliga⁷ men deras betydelse illustreras av att fynd av VRE hos människor är anmälningspliktiga i Sverige.

Varför är VRE hos djur av betydelse?

Hos djur har VRE ingen klinisk betydelse men bakterien kan via livsmedelskedjan överföras till människor, med konsekvenser för humansjukvården som följd^{2,3}.

Det är uppenbart att sådan överföring sker eftersom det i tarmkanalen hos människor förekommer VRE som är närbesläktade (kloner) med dem som finns hos djur⁸⁻¹⁹. Epidemiologiska samband mellan förekomsten av VRE hos djur och hos människor tyder också på en sådan överföring²⁰⁻²². Den tid människans tarmkanal koloniserar av VRE från djur förefaller dock vara övergående. Hos frivilliga försökspersoner kvarstod bakterierna endast några veckor i tarmkanalen²³⁻²⁵.

VRE från djur ger inga allvarliga infektioner hos människor. De fruktade nosokomiala infektionerna orsakas av VRE-kloner som sällan återfinns hos djur^{18,26-29}. Trots det är VRE från djur ett hot för humansjukvården eftersom de gener (*vanA* eller *vanB*) som ger bakterierna resistens mot vankomycin kan överföras till andra bakterier. En sådan spridning av resistensgener mellan enterokocker är en realitet. Hos isolat från människor finns nämligen samma varianter av de genetiska element som överför vankomycinresistens som hos isolat från djur³⁰⁻³³. Överföring av resistensgenerna har också visats i studier där försökspersoner intog VRE från djur. Gener för vankomycinresistens kunde sedan påvisas hos andra enterokock-kloner i försökspersonernas tarmflora²³.

VRE hos animalieproducerande djur utgör alltså en reservoar av resistensanlag som kan påverka resistensläget bland bakterier hos människor. Hög förekomst av VRE hos djur innebär att människor i högre utsträckning bär VRE i tarmkanalen, därmed ökar risken för att generna förs över till sjukdomsframkallande enterokocker^{2,19,34}.

Generna för vankomycinresistens kan spridas även till andra sjukdomsframkallande bakterier än enterokocker. Det första kliniska fallet där gener (*vanA*) från enterokocker överförts till *Staphylococcus aureus* dokumenterades i USA 2002³⁵. Endast ett fåtal ytterligare fall har hittills påvisats³⁶. *Staphylococcus aureus* orsakar de mest fruktade sjukhusinfektionerna. Bakterierna är ofta resistenta mot flera antibiotika och vankomycin en sista behandlingsmöjlighet. Överföring av vankomycinresistens från VRE till *S. aureus* är därför ett skräckscenario som många befarat³⁶. Ökad förekomst av VRE innebär en stor risk för en situation där vankomycin inte längre är användbart vid stafylokockinfektioner⁶. En sådan utveckling skulle innebära mycket stora konsekvenser för sjukvården.

Varför finns VRE hos animalieproducerande djur?

VRE hos animalieproducerande djur uppmärksammades första gången i Storbritannien 1993³⁷. Samma forskargrupp visade också att resistensen medierades av *vanA*-genen och föreslog att förekomsten av VRE berodde på användning av antibiotika till djur³⁸. Senare visades att VRE var vanliga i tarminnehåll från svin och fjäderfä i Danmark och Tyskland samt att förekomsten var kopplad till användning av avoparcin i djurfoder^{39,40}. Detta samband har senare verifierats i andra studier⁴¹⁻⁴³.

Avoparcin är ett antibiotikum som blandats i djurfoder i tillväxtbefrämjande syfte. Substansen är närbesläktad med vankomycin och det föreligger korsresistens mellan avoparcin och vankomycin eftersom resistens mot de två substanserna medieras av samma gener⁴⁴.

Användningen av avoparcin i foder innebär därför ett massivt selektionstryck som gynnar enterokocker resistent mot såväl avoparcin som vankomycin.

Avoparcin blev i Europa tillgängligt redan 1975⁴¹ och selektionstrycket hade alltså verkat länge när sambanden uppkarades. Därför var VRE vanliga i tarminnehåll från slaktsvin och fjäderfä i många Europeiska länder i mitten av 90-talet^{41,44-46}. Även i länder utanför Europa, ss. Nya Zeeland och Japan, finns VRE hos animalieproducerande djur och samband med användning av avoparcin har visats även där^{9,47}. I USA däremot har avoparcin inte använts och VRE med *vanA* eller *vanB* gener isoleras inte från animalieproducerande djur⁴⁸.

När sambandet mellan avoparcin och VRE klarlagts förbjöds substansen i EU 1997 men många länder hade redan infört nationella förbud. Förbudet resulterade i en minskad förekomst av VRE hos animalieproducerande djur^{20,41,43}. Minskningen sågs initialt som ett tecken på att VRE skulle försvinna ur animalieproduktionen men detta har inte skett. Med känsliga undersökningsmetoder (se nedan) kan nämligen VRE fortfarande påvisas hos svin och slaktkyckling i en stor andel av såväl uppfostringsanläggningar som enskilda djur^{14,49-53}. Förbudet mot avoparcin minskade den relativa andelen VRE i tarmfloran men bakterierna finns fortfarande kvar.

Vad är speciellt med den svenska situationen?

I motsats till de flesta andra Europeiska länderna har avoparcin inte använts i Sverige sedan tidigt 80-tal. Detta är sannolikt orsaken till att endast enstaka isolat av VRE påvisades hos svensk slaktkyckling under 90-talet⁵⁴⁻⁵⁷.

Undersökningar i det svenska övervakningsprogrammet SVARM visar att situationen förändrats. I SVARM används substrat såväl med som utan vankomycin för att isolera enterokocker. Med substrat utan vankomycin påvisades VRE i fyra av cirka 1000 prov från slaktkyckling undersökta mellan 2000-04 men odling på substrat med vankomycin visade att bakterien fanns i betydligt fler prov och i ökande frekvens¹. Åren 2000, 2001, 2002 och 2004 påvisades VRE i <1 %, 7 %, 24 % respektive 36 % av proven (Fig 1).

Odling på substrat med vankomycin ökar möjligheten att påvisa VRE⁵². Detta måste beaktas vid jämförelser av förekomst (prevalens) rapporterad i olika studier liksom vid tolkning av resultaten. Prevalensen vankomycinresistens hos *E. faecium* från slaktkyckling rapporterad i övervakningsprogrammen i Sverige, Norge, Danmark, Finland och Nederländerna är under senare år av samma storleksordning, 1-3 %. Resultaten baseras på undersökningar med substrat utan vankomycin och ger en delvis felaktig bild.

Av övervakningsprogrammen i Europa är det endast SVARM som använder både en känsligare och en mindre känslig odlingsmetod för att påvisa VRE. I studier utanför programmen har däremot känsligare metoder använts även i andra länder. I jämförelse med dessa studier är förhållandena i Sverige gynnsammare än i de flesta andra länder. I t.ex. Danmark och Norge påvisas VRE fortfarande i majoriteten av de anläggningar där avoparcin använts under 90-talet, 74 respektive 96 %^{51,58} medan bakterien förekom i prov från 18 % av 106 svenska anläggningar år 2002-03⁵⁹.

Majoriteten av VRE från svensk slaktkyckling är *Enterococcus faecium* med en likartad biokemisk fenotyp, likartat pulsfältsmönster (PFGE) och likartat antibiogram vilket talar för att de tillhör en klon⁶⁰. Hos slaktkyckling i andra länder förekommer däremot ett flertal kloner, till och med inom samma uppfödningssystem^{16,50,61}. Klonaliteten hos de svenska isolaten tyder på ett gemensamt ursprung varifrån bakterien spridits, medan de kloner som förekommer i andra länder sannolikt är kvarlevor från den tid avoparcin användes. Sannolikt selekterades flera olika kloner fram genom överföring av resistensgener under den långa tid enterokockpopulationen stod under selektionstryck av avoparcin.

Vad har gjorts i Sverige?

Förutom de årliga undersökningarna i SVARM, har ytterligare studier genomförts för att bringa klarhet i VRE-situationen hos svensk slaktkyckling^{59,60,62,63}. Undersökningarna har utförts i samarbete med Svensk Fågel AB och med ekonomiskt bidrag från SLF och SVA. Resultaten av dessa undersökningar sammanfattas nedan.

- År 2003 fanns VRE i minst 18 % av de svenska slaktkycklinguppfödningarna.
- VRE finns på svensk slaktkyckling även i konsumentledet. Förekomsten är dock lägre än i utländsk kyckling, 14 respektive 36 %.
- VRE finns inte kontinuerligt i föräldraflockar, kläckerier eller foderfabriker och dessa är sannolikt inte ständiga källor för spridning av bakterien. Resultaten överensstämmer med danska och norska undersökningar^{52,61}.
- VRE tillhör inte den normala floran i stallmiljön utan har sannolikt introducerats till anläggningar där den finns. På sådana anläggningar är bakterien vitt spridd i miljön och cirkulerar sannolikt i luften i avdelningen. Alla avdelningar på en anläggning måste betraktas som smittade. Nyinsatta kycklingar koloniserar sannolikt av VRE som finns kvar i stallarna mellan omgångar, vilket även är uppfattningen i Danmark och Norge^{61,64}.
- Rengöring/desinfektion, som de används idag, eliminerar inte VRE i miljön. Rutinerna skiljer sig inte påtagligt mellan de anläggningar där VRE finns och de där bakterien inte finns. De bör därför inte vara av primär betydelse för förekomsten av VRE.
- I en infektionsmodell hindrade inte tillförsel av probiotika (Lactiferm[®]) eller tarmflorakultur (Broilact[®]) kolonisation med VRE. Pilotstudie talade inte för att sk. ”competitive exclusion” är ett enkelt sätt att minska förekomsten av VRE, men metoden bör utvärderas ytterligare, bl.a. bör effekten vid olika doseringar och smittryck utvärderas. Den infektionsmodell som utprovades lämpar sig dessutom för epidemiologiska i försöksmiljö.
- Introduktionsvägar för VRE till produktionsanläggningarna har inte påvisats men bakterien finns på utrustning (truckar) som används för utlastning vid uttag för slakt. Detta innebär en möjlig spridningsväg vars betydelse inte kan bedömas i dagsläget.

Referenser (fullständig referenslista, 61 referenser, kan erhållas från de sökande)

2. Bonten MJ, Willems R, Weinstein RA. Vancomycin-resistant enterococci: why are they here, and where do they come from? *Lancet Infect Dis* 2001;1:314-325.
14. Sorum M, Johnsen PJ, Aasnes B, et al. Prevalence, persistence, and molecular characterization of glycopeptide-resistant enterococci in norwegian poultry and poultry farmers 3 to 8 years after the ban on avoparcin. *Appl Environ Microbiol* 2006;72:516-521.
18. Willems RJ, Top J, van Den Braak N, et al. Host specificity of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *J Infect Dis* 2000;182:816-823.
20. Klare I, Badstubner D, Konstabel C, et al. Decreased incidence of VanA-type vancomycin-resistant enterococci isolated from poultry meat and from fecal samples of humans in the community after discontinuation of avoparcin usage in animal husbandry. *Microb Drug Resist* 1999;5:45-52.
23. Lester C, Frimodt-Moller N, Sorensen T, et al. In vivo transfer of the vanA resistance gene from an *Enterococcus faecium* strain of animal origin to a human *E. faecium* in the intestine of human volunteers. *2nd International ASM-FEMS Conference on Enterococci* 2005;27.
34. Sundsfjord A, Simonsen GS, Courvalin P. Human infections caused by glycopeptide-resistant *Enterococcus* spp: are they a zoonosis? *Clin Microbiol Infect* 2001;7 Suppl 4:16-33.