

ESBL-bildande *E.coli* i vår omgivning – livsmedel som spridningsväg till människa

av Maria Egervärn, Åsa Rosengren, Stina Englund, Stefan Börjesson,
Sonja Löfmark, Sofia Ny och Sara Byfors



Innehåll

Förord.....	3
Projektgrupp.....	4
Summary	5
Sammanfattning	7
Inledning	9
Syfte.....	11
Bakgrundsfakta om ESBL och ESBL-bildande tarmbakterier	11
ESBL-bildande tarmbakterier och hur de sprids	11
Förekomst av ESBL-bildande tarmbakterier i vår omgivning.....	14
Förekomst hos människa.....	14
Förekomst hos livsmedelsproducerande djur och i livsmedel.....	15
Förekomst i miljön och avloppsvatten	16
Livsmedel som spridningsväg	17
ESBL _{CARBA} -bildande tarmbakterier är speciellt oroande	17
Utförande	18
Urval och provinsamling	19
Livsmedel.....	19
Livsmedelsproducerande djur	20
Friska människor.....	20
Sjuka människor.....	21
Miljön.....	21
Avloppsvatten	21
Analyser.....	21
Isolering av ESBL-bildande <i>E. coli</i>	21
Karaktersisering av ESBL-bildande <i>E. coli</i>	21
Statistisk analys	22
Resultat	23
Förekomst av ESBL-bildande <i>E. coli</i> i olika provkategorier.....	23
Livsmedel.....	23
Livsmedelsproducerande djur	23
Friska människor.....	23
Sjuka människor.....	24
Miljö.....	24
Avloppsvatten	24
Likheter och fördelning av ESBL-bildande <i>E. coli</i> från livsmedel, livsmedelsproducerande djur, människor, miljö och avloppsvatten.....	26
ESBL-gener.....	26
ESBL-gener och tillhörande plasmider	28
ESBL-gener och tillhörande plasmider i olika <i>E. coli</i> -typer (ST).....	30
Multiresistens	31
Diskussion.....	33
Slutord.....	36
Finansiering.....	36
Tack!	36
Referenser	37
Bilaga 1-3	

Förord

Antibiotikaresistens är ett av de största globala hoten mot folkhälsan och modern sjukvård. Ett av de allvarligaste resistensproblemen är så kallade ESBL (Extended Spectrum Beta-Lactamase)-bildande tarmbakterier, däribland *Escherichia coli*-bakterier, vilka påvisas alltmer inom sjukvården och i samhället. Konsekvenserna är väldokumenterade och innefattar ökad dödlighet, förlängda vårdtider och ökade kostnader för sjukvården. I Sverige har antalet fall ökat med upp till 33 procent per år de senaste åren. ESBL-bildande *E. coli*, liksom andra resistenta bakterier, utgör en allt större andel av den mikrobiologiska mångfalden och sprids allt oftare mellan människor, livsmedelsproducerande djur, livsmedel och miljön. Antibiotikaresistens är därför ett gemensamt problem för flera sektorer och där begreppet ”en värld – en hälsa” är centralt. Det betyder att myndigheter inom livsmedelskedjan, sjukvården och miljön måste samarbeta för att hantera problemet.

Livsmedelsverket, Statens veterinärmedicinska anstalt (SVA) och Folkhälsomyndigheten har genomfört ett kunskapsuppbyggande projekt: ”Antibiotikaresistens – Livsmedels roll som källa och spridningsväg för ESBL-bildande *E. coli* och potentiell betydelse för folkhälsan”. Syftet har varit att öka förståelsen för hur ESBL-bildande *E. coli* cirkulerar mellan människor, livsmedelsproducerande djur, livsmedel och miljön, och specifikt vilken roll livsmedel har för spridningen till människor. Projektet har finansierats av Myndigheten för samhällsskydd och beredskap, anslag 2:4 krisberedskap, som ett led i att stärka den nationella krisberedskapen på området.

Uppsala och Stockholm, november 2014.

Projektgrupp

Livsmedelsverket

Maria Egervärn	Risk- och nyttovärderare, Risk- och nyttovärderingsenheten; projektledare 2012-2014
Sara Johansson	Kommunikationsstrateg, Kommunikationsenheten
Mats Lindblad	Smittskyddsamordnare, Kontrollstödsenheten
Marianne Ljunge	Laboratorieingenjör, Mikrobiologienheten
Åsa Rosengren	Risk- och nyttovärderare, Risk- och nyttovärderingsenheten; projektledare 2014
Ingela Tillander	Laboratorieingenjör, Mikrobiologienheten
Christer Wiberg	Mikrobiolog, Mikrobiologienheten

SVA

Stefan Börjesson	Forskare, Avdelningen för djurhälsa och antibiotikafrågor
Stina Englund	Forskare, Avdelningen för djurhälsa och antibiotikafrågor; projektledare 2012-2014
Maria Finn	Biomedicinsk analytiker, Avdelningen för djurhälsa och antibiotikafrågor
Helena Ohlsson	Kommunikatör, Staben för kommunikation

Folkhälsomyndigheten

Jakob Bergström	Statistiker, Enheten för statistik och övervakning
Sara Byfors	Chef, Enheten för parasitologi, livsmedels- och vattenburen smitta; projektledare 2012-2013
Sofia Ny	Utredare, Enheten för antibiotikaresistens och luftvägsbakteriologi
Sonja Löfmark	Utredare, Enheten för antibiotika och vårdhygien; projektledare 2014
Maj Ringman	Handläggare, Enheten för antibiotikaresistens och luftvägsbakteriologi
Aase Steen	Kommunikatör, Enheten för övergripande kommunikation

Summary

Antibiotic resistance is a major threat to global health and affects many different sectors throughout society. ESBL (including pAmpC)-producing *Escherichia coli* can cause difficult-to-treat infections with few treatment options and its prevalence is rapidly increasing in Sweden and in other countries. The increase is seen both within the healthcare sector and in the wider community. In Sweden, ESBL-producing *Enterobacteriaceae*, including *E. coli*, is the most commonly reported resistance type, with 8131 cases during 2013.

The main aim of this study was to investigate food as a potential source and dissemination route for ESBL-producing *E. coli* to humans. A further aim was to examine how this type of resistance is distributed in humans, foods, food-producing animals and the environment. By investigating the prevalence and genetic similarities between ESBL-producing *E. coli* from different parts of the environment, an indirect measure of dispersion between settings was obtained. Such information is important for future risk management of foodstuffs in relation to ESBL-producing *E. coli*.

The study used analytical data on approximately 5300 samples taken from foods (domestic and imported), food-producing animals, healthy volunteers, severely ill patients, the environment and sewage water. All samples were collected in Sweden. The prevalence of ESBL-producing *E. coli* was determined by selective cultivation. To investigate similarities between ESBL-producing *E. coli* from different sample groups, molecular typing and antibiotic resistance determination followed by descriptive statistics were used.

E. coli producing ESBL were frequently found on chicken meat, regardless of origin, but also occurred to a lesser extent on imported pork, beef, leafy vegetables and farmed fish foodstuffs. ESBL-producing *E. coli* isolated from imported foods and foods from other EU countries differed from those isolated from foods produced in Sweden. A limited number of the ESBL-producing *E. coli* found in foods and food-producing animals were of the same type as those found in severely ill patients and healthy individuals. The carriage rate of ESBL-producing *E. coli* in the healthy study population was close to 5 per cent. In many countries, carriage of ESBL-producing bacteria is widespread and the results from this study confirm previous findings that travelling outside the Nordic countries increases the risk of becoming a carrier. The same types of ESBL-producing *E. coli* found in severely ill patients and healthy individuals were also found in the Swedish environment and sewage water.

In conclusion, the study indicated that food on the Swedish market is a limited contributor to the prevalence of ESBL-producing *E. coli* within the healthcare sector. It also showed that there are three separate populations of ESBL-producing *E. coli* in Sweden today, one in Swedish foods and food-producing animals, one in imported foods and foods from other EU-countries, and one in humans. The results provide a picture of the current Swedish situation regarding occurrence of ESBL (including pAmpC)-producing *E. coli*. However, antibiotic resistance is dynamic. The national setting is influenced by changes in global epidemiology and the situation can change rapidly. Therefore, continuous monitoring of the prevalence of ESBL-producing bacteria in foods and in the environment is needed so that future risks can be assessed and management plans updated. Limiting the spread of resistance and maintaining the efficacy of antibiotics is a major challenge in the world today.

Sammanfattning

Antibiotikaresistens berör många olika sektorer och är ett betydande hot mot den globala folkhälsan, med konsekvensen att vanliga infektioner kan leda till dödsfall. ESBL-bildande *Escherichia coli* kan orsaka svårbehandlade infektioner och ökar snabbt inom sjukvården och samhället i både Sverige och i andra länder. I Sverige är nu ESBL-bildande *Enterobacteriaceae*, inklusive *E. coli*, den vanligaste anmälningspliktiga resistensen med 8131 fall under 2013.

Studiens syfte var att öka kunskapen om livsmedels betydelse som källa och möjlig spridningsväg för ESBL-bildande *E. coli* till människor och därmed bidra till underlaget för riskhantering. Syftet var också att bättre förstå hur denna antibiotikaresistens cirkulerar mellan människor, livsmedel, livsmedelsproducerande djur och miljön. Genom att undersöka förekomsten av, och likheter mellan, ESBL-bildande *E. coli* från olika delar av vår omgivning kan man få ett indirekt mått på spridning mellan olika miljöer.

I denna studie ingår analysdata från sammanlagt cirka 5 300 olika prov från livsmedel, livsmedelsproducerande djur, friska och sjuka människor, miljön samt avloppsvatten. Alla prov samlades in i Sverige och förekomsten av ESBL-bildande *E. coli* undersöktes med en selektiv odlingsmetod. Molekylära metoder och antibiotikakänslighetstester följt av beskrivande statistik användes för att undersöka om de resistenta *E. coli* som påvisats i olika typer av prov var av samma slag.

E. coli med ESBL var vanligt i kycklingkött oavsett ursprungsland, men fanns i mindre omfattning även i infört (det vill säga från annat EU-land) kött av gris och nöt samt i enstaka införda bladgrönsaker och importerad odlad fisk. ESBL-bildande *E. coli* i livsmedel som införts från annat EU-land eller importerats från länder utanför EU var av annan typ än de som påvisades i svenska livsmedel. Ett fåtal ESBL-bildande *E. coli* som hittades i livsmedel och hos livsmedelsproducerande djur var av samma slag som de som fanns hos sjuka och friska människor. Knappt fem procent av friska individer i Sverige var bärare av ESBL-bildande *E. coli*. I flera länder är bärarskapet större och resultaten visar att utlandsresor ökar risken att bli bärare av ESBL-bildande tarmbakterier. Samma typ av ESBL-bildande *E. coli* som orsakar sjukdom hos människor och som till stor del även fanns hos den friska befolkningen, påvisades även i miljön och i avloppsvatten.

Sammanfattningsvis visar resultaten att livsmedel på den svenska marknaden i dag utgör en begränsad källa till förekomsten av ESBL-bildande *E. coli* inom sjukvården i Sverige. Vidare tyder resultaten i sin helhet på att det i Sverige idag finns tre i stort separerade populationer av ESBL-bildande *E. coli*, en för svenska livsmedel och livsmedelsproducerande djur, en för importerade/införda livsmedel samt en för människa. Studien ger en bild av hur läget i Sverige ser ut idag

gällande ESBL-bildande *E. coli* i vår omgivning. Samtidigt sker en global spridning av antibiotikaresistens och då resistensproblemet är dynamiskt kan läget snabbt ändras. Förekomsten av ESBL-bildande tarmbakterier i livsmedel och i vår omgivning behöver därför följas kontinuerligt för att kunna bedöma framtida risker och uppdatera åtgärdsplaner. Att begränsa resistensspridning och bevara effekten av antibiotika är några av våra största utmaningar.

Inledning

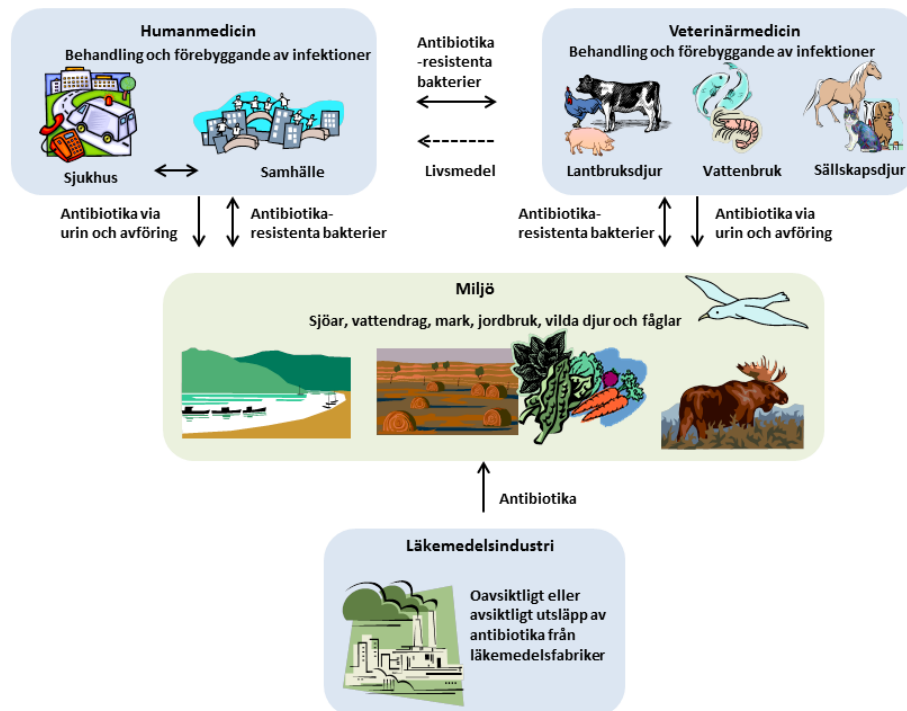
Bakterier som blir resistenta, motståndskraftiga, mot antibiotika bedöms av Världshälsoorganisationen, WHO, som ett av de största hoten mot folkhälsan (2014). Bara i Europa dör minst 25 000 människor varje år som en direkt följd av bakterieinfektioner som inte är behandlingsbara med antibiotika (ECDC, 2007). Sedan 80-talet har väldigt få antibiotikagrupper tagits fram och mediciner som kan ersätta antibiotika saknas fortfarande. Det betyder att förutsättningarna för dagens högspecialiserade sjukvård hotas då den kräver verksamma antibiotika till exempel vid behandling av infektioner, organtransplantationer, kirurgiska ingrepp, neonatalvård och cellgiftsbehandlingar (WHO, 2014). Den ökade förekomsten av antibiotikaresistenta bakterier leder också till ökande kostnader för samhället, bland annat har det uppskattats att antibiotikaresistens kostar sjukvården i EU drygt 14 miljarder kronor per år (KOM, 2011).

Tarmbakterier som bildar enzymer av typen ESBL (Extended Spectrum Beta-Lactamase) är den typ av anmälningspliktiga antibiotikaresistenta bakterier inom humanmedicinen som ökar snabbast i Sverige och utgör även ett alarmerande hälsohot internationellt (EFSA, 2011a; Swedres/Svarm, 2013; WHO, 2014; Woerther et al., 2013). Många EU-länder har idag en endemisk situation, där i vissa fall 25 procent av invasiva *Escherichia coli* bildar ESBL (EARS-Net, 2012). ESBL-enzymet gör att bakterien kan bryta ner cefalosporiner, en antibiotikagrupp som används vid behandling av svåra infektioner. Antibiotikan blir då verkningslös och infektionerna svårbehandlade (faktaruta 1, figur 2). Enligt europeiska myndigheten för livsmedelssäkerhet, Efsa (2011a) är det sannolikt att ESBL-resistens kan överföras från livsmedelsproducerande djur (speciellt slaktkycklingar) till människor via livsmedel. Kunskapen är dock inte fullständig, inte minst när det gäller hur och i vilken grad livsmedel bidrar till spridningen till människor.

Överanvändning av antibiotika till människor och djur gör att andelen antibiotikaresistenta bakterier snabbt ökar inom sjukvården och i samhället, både i Sverige och i andra länder. Uppkomsten och spridningen av antibiotikaresistenta bakterier inom humansjukvården bedöms främst bero på nödvändig och onödig antibiotikaanvändning till människor och spridning av infektioner mellan människor (van de Sande-Bruinsma et al., 2008). Antibiotika som används till djur är också av betydelse för spridningen då det leder till att andelen resistenta bakterier ökar och att dessa kan föras över till människor bland annat via direktkontakt med djuren. En annan viktig väg för sådan överföring är att resistenta bakterier från djur som hålls för produktion av livsmedel kan överföras till animaliska livsmedel vid slakt samt till vegetabiliska livsmedel vid odling och bevattning via gödsel eller via gödsel- eller avloppspåverkat vatten. Livsmedel kan följaktligen vara en möjlig spridningsväg för resistenta bakterier från djur till människor (figur 1), speciellt i länder med låg förekomst hos människor men med hög förekomst i livsmedel och hos livsmedelsproducerande djur (Efsa, 2009). Det är dock ännu inte klarlagt hur mycket av resistensproblematiken inom sjukvården och i samhället som beror på antibiotikaresistenta bakterier i maten.

Syfte

Syftet med studien var att öka kunskapen om hur stor betydelse livsmedel har som källa och möjlig spridningsväg för ESBL-bildande *E. coli* till människor i Sverige samt att bättre förstå hur denna typ av antibiotikaresistens cirkulerar mellan livsmedel, friska och sjuka människor, livsmedelsproducerande djur, miljön samt avloppsvatten. Studien ska ge ett underlag för beslut om relevanta riskhantlingsåtgärder.



Figur 1. Antibiotikaresistensens kretslopp. Antibiotikaresistenta bakterier kan överföras mellan olika miljöer som sjukhus, djurproduktion och den yttre miljön. Vid användande av antibiotika rubbas den mikrobiologiska mångfalden genom att bakterier utsätts för ett selektivt tryck. Det leder till att resistenta bakteriestammar överlever och förökar sig medan de som är känsliga slutar att tillväxa eller dör. De antibiotikaresistenta bakterierna inklusive de resistensgener de bär på kan sedan spridas och cirkulera mellan olika miljöer (modifierad efter Anderson och Hughes (2014)).

Bakgrundsfakta om ESBL och ESBL-bildande tarmbakterier

ESBL-bildande tarmbakterier och hur de sprids

E. coli ingår i den normala tarmfloran hos friska människor och djur. De allra flesta *E. coli* är harmlösa, men ändå är det en bakterie som orsakar flest urinvägsinfektioner, blodförgiftningar, hjärnhinneinflammationer hos för tidigt födda barn samt mag-tarminfektioner (WHO, 2014). Personer med nedsatt allmäntillstånd eller immunförsvar är särskilt känsliga.

Vissa *E. coli*-typer är mer benägna att orsaka sjukdom hos människa som till exempel urinvägsinfektion och mag- och tarminfektioner. Förutom mag- och tarminfektionerna behandlas dessa ofta med så kallade betalaktam-antibiotika, till exempel penicilliner, cefalosporiner och karbapenemer. Inom humanmedicinen är cefalosporiner särskilt viktiga för behandling av svåra infektioner som blodförgiftning och lunginflammation. Tillsammans med kinoloner och makrolider utgör cefalosporiner de viktigaste antibiotikaklasserna för folkhälsan enligt WHO (2007).

Om *E. coli*-bakterier förvärvat resistens genom att producera ESBL-enzym kan infektionerna vara mycket svårbehandlade eftersom ESBL bryter ner betalaktamantibiotika (faktaruta 1, figur 2). I Sverige är *E. coli* den dominerande ESBL-bildande bakteriearten, men andra arter av tarmbakterier kan också bära på ESBL-enzym, till exempel *Klebsiella pneumoniae* (Swedres/Svarm, 2013).

Även vid mindre allvarliga infektioner leder infektioner med ESBL-bildande bakterier till förlängda vårdtider och ökade vårdkostnader (Giske et al., 2008). Studier har också visat att infektion med ESBL-bildande bakterier leder till en ökad dödlighet (Giske et al., 2008; Schwaber and Carmeli, 2007). Vanliga spridningsvägar är via händerna till exempel efter toalettbesök, indirekt via föremål och via vatten eller livsmedel som förorenats.

Det finns många varianter av ESBL som har varierande förmåga att bryta ner betalaktam-antibiotika (faktaruta 1). Dessutom kan ESBL-resistensen spridas på många olika sätt. En sorts spridning är så kallad klonal spridning, som betyder att en och samma bakterie (klon) med ESBL-resistens förökar sig och cirkulerar i sin omgivning. Ett annat sätt är att själva generna som kodar för ESBL-enzymerna kan överföras till andra närbesläktade bakterier inom familjen *Enterobacteriaceae*. ESBL-generna sitter ofta på plasmider (faktaruta 2), som i många fall har stor benägenhet och möjlighet att genom så kallad konjugation överföras både mellan olika *E. coli*-stammar samt mellan *E. coli* och andra bakterierarter (faktaruta 2, Figur 3). ESBL-generna kallas för *bla*-gener och betecknas vetenskapligt som till exempel *bla*_{CTX-M}, *bla*_{CMY}, *bla*_{SHV} och så vidare. För ökad läsbarhet

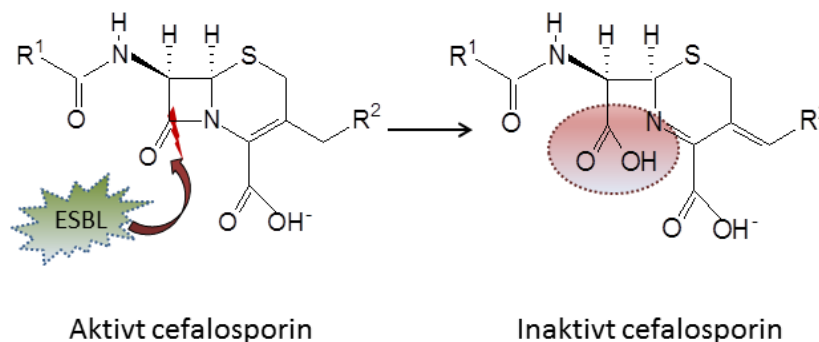
benämns fortsättningsvis dessa ESBL-gener med gemena bokstäver, det vill säga motsvarande *ctx-m*, *cmy* och *shv*. Det finns olika typer av plasmider som bär på ESBL-generna och de kan i sin tur finnas i olika typer av *E. coli*-bakterier. Vissa plasmidtyper har lättare för att överföras mellan bakterier och vissa *E. coli*-typer är mer benägna att orsaka infektion.

Förutom gener som kodar för ESBL, kan de överföringsbara plasmiderna även innehålla gener för annan antibiotikaresistens. Det betyder att ESBL-bildande tarmbakterier ofta är multiresistenta, det vill säga resistenta mot minst tre antibiotikaklasser. Det gör att infektioner orsakade av dessa bakterier kan vara än mer svårbehandlade. Inom humanmedicinen dominerar *E. coli*-typ ST131 med den specifika ESBL-genen *ctx-m-15* (Naseer and Sundsfjord, 2011), (faktaruta 3).

Fakta 1: ESBL och cefalosporiner

ESBL är en förkortning för "Extended spectrum beta-lactamase" och är ett samlingsnamn för en grupp enzymer som inaktiverar betalaktam-antibiotika såsom cefalosporiner. Det finns väldigt många grupper av ESBL-enzym, till exempel CTX-M och CMY-2. De produceras främst av tarmbakterier som tillhör familjen *Enterobacteriaceae* där *Escherichia coli* är vanligast.

Cefalosporiner är mycket viktiga antibiotika som används för behandling av infektioner som till exempel blodförgiftning, urinvägsinfektioner, lunginflammationer. ESBL-enzymet gör cefalosporinet överksamt och leder till att antibiotikabehandlingens effekt uteblir, se figur 2.



Figur 2. ESBL-enzymet bryter upp cefalosporinets betalaktamring, vilket leder till att antibiotikumet blir överksamt. R^1 och R^2 är variabla regioner som skiljer sig mellan olika typer av cefalosporiner (modifierad efter Kuhn (2004)).

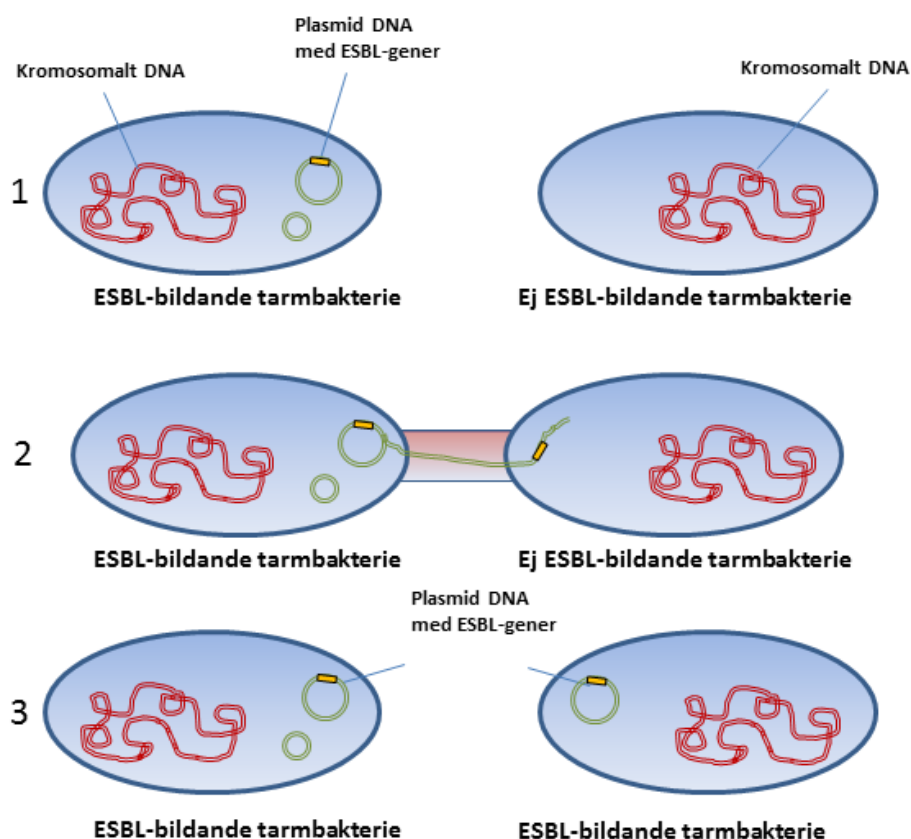
Fakta 2: Plasmid

En plasmid är ringformat DNA som är separerad från bakteriens kromosomala DNA. Plasmider bär på gener som kan ge bakterien fördelar för dess överlevnad i vissa miljöer, till exempel resistens mot olika antibiotika. Kromosomens gener står däremot för bakteriens livsviktiga funktioner. Gener som kodar för ESBL-enzymen och annan antibiotikaresistens finns oftast på plasmider.

En och samma plasmid kan innehålla flera olika resistensgener. Det innebär att ESBL-bildande bakterier ofta är multiresistenta, det vill säga resistenta mot tre eller flera antibiotikaklasser. Det innebär i sin tur att om någon annan antibiotika än betalaktamer används, men som gynnar någon av de andra resistensgenerna, så sker det samtidigt en indirekt selektion för samtliga resistensgener på plasmiden.

Det finns flera olika typer av plasmider. Exempel på några olika plasmidtyper är Inc-I1, Inc-FII och Inc-K.

Plasmider kan lätt överföras mellan bakterier när de tillfälligt kopplas ihop. se figur 3



Figur 3. Principskiss över hur plasmider med ESBL-gener överförs mellan bakterier genom konjugation.

Fakta 3: MLST typning av *E. coli*

Typning av *E. coli* kan göras med MLST (Multilocus sequence typing) som är en molekylärbiologisk typningsmetod som används för att bedöma hur nära besläktade olika isolat är inom en och samma bakterieart. Metoden bygger på skillnader i gener som är nödvändiga för *E. coli* bakteriens funktion och därför finns bevarade på kromosomen hos alla isolat.

Resultatet kallas för sekvenstyper som förkortas ST. Exempel på vanliga ST-typer hos ESBL-bildande *E. coli* är ST131, ST648 och ST38. (EFSA, 2013a; Enright and Spratt, 1999).

Förekomst av ESBL-bildande tarmbakterier i vår omgivning

Förekomst hos människa

Även om Sverige jämfört med andra länder har ett gott läge avseende ESBL-bildande tarmbakterier, så har det skett en kraftig ökning av antalet ESBL-fall de senaste åren (Swedres/Svarm, 2013). I Sverige blev ESBL-bildande tarmbakterier inom familjen *Enterobacteriaceae* anmälningspliktiga för de kliniska mikrobiologiska laboratorierna år 2007. Sedan dess har antalet rapporterade fall ökat mellan 13 och 33 procent varje år (Swedres/Svarm, 2013). Under 2013 rapporterades drygt 8 100 nya fall av ESBL, varav 88 procent hittades i arten *E. coli*. Internationellt är den ökande förekomsten av ESBL-bildande tarmbakterier ett stort problem och från att ha varit en vårdrelaterad smitta har epidemiologin under de senaste åren utvecklats till en global spridning även i samhället (Woerther et al., 2013). Inom humansjukvården i Norden delas sedan 2009 ESBL-kategorierna in enligt tabell 1 (Giske et al., 2009).

Kartläggningar visar att kategorin ESBL_A tillhörande gruppen CTX-M (tabell 1) är den vanligaste enzymgruppen i Sverige och i stora delar av världen. I denna grupp är ESBL-varianten CTX-M 15 den allra vanligaste (Brolund et al., 2013; Helldal et al., 2013; Woerther et al., 2013). I Sydostasien och Sydamerika är dock ESBL-varianterna CTX-M 14 respektive CTX-M 2 vanliga (Woerther et al., 2013). I USA och Asien är kategorin ESBL_M med enzymgruppen CMY vanligt förekommande, (tabell 1), men fynd av CMY-typ rapporteras också allt oftare i Europa (D'Andrea et al., 2011).

Friska människor kan också bära på ESBL-bildande tarmbakterier. Andelen friska bärare varierar mellan Sverige och andra länder, men det behövs fler studier om förekomst (Woerther et al., 2013). I Sverige beräknas 2 till 5 procent vara friska bärare medan i andra länder kan bärarskapet uppgå till 60 procent (Chabok et al., 2010; Folkhälsomyndigheten, 2012; Strömdahl et al., 2011). Utlandsresor till om-

råden där ESBL-bildande tarmbakterier är vanligt förekommande innebär en ökad risk för bärarskap (Tängden et al., 2010). Vissa personer kan bära på ESBL-bildande bakterier i flera år, men för de allra flesta försvinner bakterierna inom ett år. Det är inte känt vad som påverkar detta och det går inte heller att förutsäga vilka som löper störst risk att få ett långvarigt bärarskap (Alsterlund et al., 2012; Folkhälsomyndigheten, 2012; Tängden et al., 2010). Som bärare av ESBL-bildande tarmbakterier är man inte sjuk, men bakterierna kan spridas till riskgrupper i samhället och där orsaka infektion hos till exempel äldre och immunsvaga personer.

Tabell 1. Indelning av ESBL-kategorier i Norden. ESBL definieras som överförbara betalaktamaser som bryter ner antibiotikaklasserna cefalosporiner och eller karbapenemer.

ESBL-kategori	Exempel på enzymer ^a	Kommentar
ESBL _A	CTX-M (inklusive CTX-M grupp 1, 2, 8, 9 och 25); TEM; SHV	Utanför Norden benämns dessa som ESBL
ESBL _M	CMY; AAC	Utanför Norden benämns dessa som pAmpC
ESBL _{CARBA}	KPC; MBL; OXA	Dessa utgör en mer elakartad resistens, som ger extremt resistent bakterier. Utanför Norden benämns dessa som karbapenmaser

^aGenerna som kodar för dessa ESBL-enzymers skrivs i denna rapport fortsättningsvis med gemener, exempelvis *ctx-m*, *tem*, *shv*, *cmv*, *aac* och så vidare. Det vetenskapliga skrivsättet av ESBL-gener är till exempel *bla*_{CTX-M-15} men vi har i denna rapport frångått detta skrivsätt för att öka läsbarheten.

Förekomst hos livsmedelsproducerande djur och i livsmedel

ESBL-bildande tarmbakterier, främst *E. coli* och salmonella, påvisas allt oftare hos livsmedelsproducerande djur och i livsmedel inom EU. Förekomsten mellan länderna och mellan olika djurslag varierar från 0 till 94 procent (Seiffert et al., 2013). Högst är förekomsten hos slaktkyckling och på kycklingkött (DANMAP, 2012; Efsa, 2011b; Egea et al., 2012; Kola et al., 2012; Overdevest et al., 2011; Seiffert et al., 2013).

Förekomst av ESBL-bildande *E. coli* hos svenska livsmedelsproducerande djur och kött är generellt låg, under två procent (Swedres/Svarm, 2012). Undantaget är slaktkyckling och värphöns. Vid övervakningstillfällena 2012 och 2013 var förekomsten 13 procent hos värphöns och 40 procent hos slaktkyckling (Swedres/Svarm, 2012, 2013). Bland ESBL-bildande *E. coli*-isolat från fjäderfä och svenskt kycklingkött dominerade genen för ESBL-gruppen CMY-2, där den utgjorde mer än 90 procent av generna som identifierades (Egervärn et al., 2011; Swedres/Svarm, 2012). Smittspårning inom slaktkycklingproduktionen har visat att ESBL-

bildande *E. coli* finns hos avelsdjur som importeras från Storbritannien och den höga förekomsten bland svenska slaktkycklingar beror sannolikt på spridning av resistenta bakterier från dessa (Nilsson et al., 2014). Indikationer på sådan spridning har också rapporterats från andra EU-länder (Dierikx et al., 2013; Efsa, 2011a). Till skillnad från många andra länder, används cefalosporiner överhuvudtaget inte inom svensk uppfödning av slaktkycklingar. Även annan användning av antibiotika är begränsad i Sverige, exempelvis behandlades endast 0,13 procent av svenska slaktkycklingflockar under 2013 (Swedres/Svarm).

Kunskapen om förekomst och betydelse av ESBL-bildande tarmbakterier på vegetabilier är liten (Efsa, 2011a, 2013b). De studier som gjorts visar på låg förekomst, men oftast saknas selektiva odlingsmetoder och molekylär karaktärisering av bakterierna (Egea et al., 2011; Hassan et al., 2011; Skockova et al., 2013). I en nederländsk undersökning av inhemska grönsaker påvisades ESBL-bildande bakterier i 6 procent av proven (Reuland et al., 2014).

Förekomst i miljön och avloppsvatten

Miljön och speciellt olika vattenmiljöer är möjliga spridningsvägar för resistenta bakterier, inkluderat ESBL-bildande tarmbakterier. Kunskapen om förekomsten och betydelsen av dessa bakterier i vatten är emellertid bristfällig (Efsa, 2011a). I Sverige har inte heller någon större undersökning i miljön gjorts innan 2013. Fynd av ESBL-bildande *E. coli* har rapporterats i vattenprov från Svartån och Hjälmarens (Jass and Olsson, 2013).

I andra länder har ESBL-bildande tarmbakterier påvisats i flera olika miljöer. I europeiska vattendrag är ESBL-gruppen CTX-M vanligast och den har också påvisats i Nordamerika, Afrika och Asien (Chen et al., 2010; Chouchani et al., 2013; Dhanji et al., 2011; Hu et al., 2013; Jass and Olsson, 2013; Kim et al., 2008; Mataseje et al., 2009; Tacao et al., 2012; Zurfluh et al., 2013). ESBL-bildande *E. coli* har även hittats i Antarktis (Hernandez et al., 2012).

ESBL-bildande *E. coli* i olika vattendrag har troligen främst sitt ursprung från människor, men de kan även komma från djur (Hu et al., 2013; Zurfluh et al., 2013). Den mest direkta vägen till vattendrag är genom avloppsreningsverk där de också påvisats i utgående vatten. ESBL-bildande tarmbakterier kan finnas i alla sorters avloppsvatten, inkluderat avloppsvatten från sjukhus (Galvin et al., 2010; Korzeniewska et al., 2013; Reinthaler et al., 2010; Wellington et al., 2013).

ESBL-bildande tarmbakterier har också påvisats i olika typer av jordar i Europa (Hartman et al., 2012; Walsh and Duffy, 2013). Att dessa bakterier numera verkar vara allmänt spridda i miljön indikeras av att de har påvisats i spillning från vilda måsfåglar i Sverige och även från vilda fåglar och andra vilda djur i övriga världen (Bonnedahl et al., 2010; Guenther et al., 2011; Hernandez et al., 2013; Wallensten et al., 2011).

Livsmedel som spridningsväg

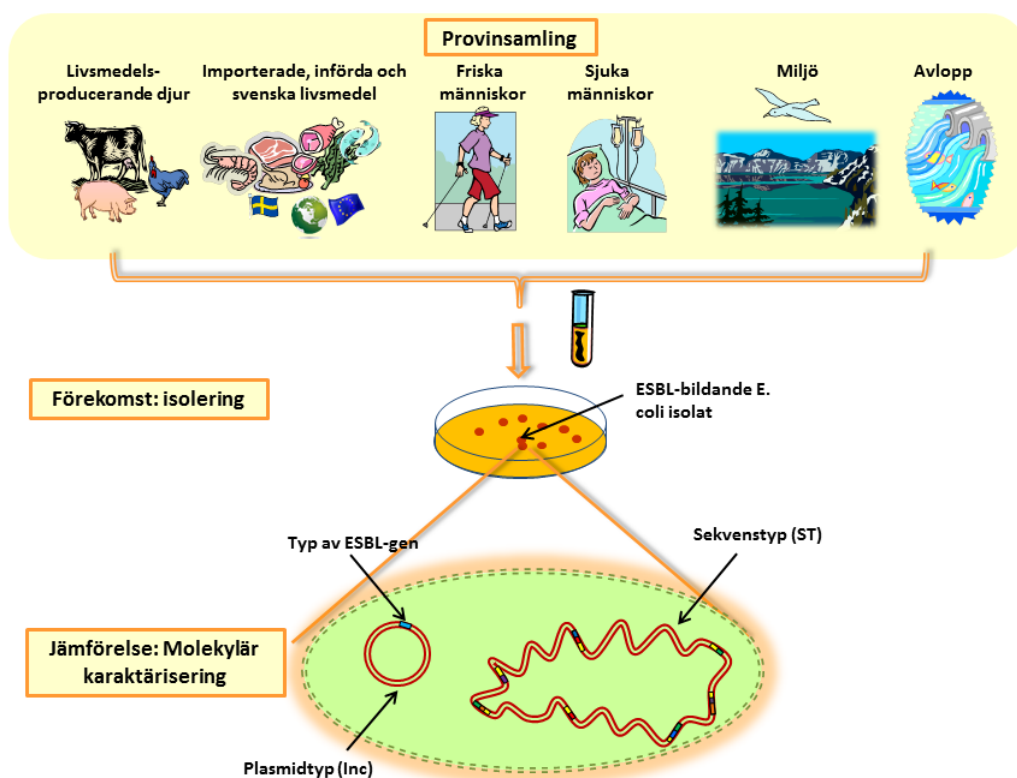
Svenskt gris- och nötkött utgör idag troligen en begränsad källa för vidare spridning till människor eftersom ESBL-bildande tarmbakterier inte påvisats i kött från gris och nöt samt att förekomsten är låg bland livsmedelsproducerande djur. Undantaget kan vara svenska slaktkycklingar och svenskt kycklingkött där förekomsten i båda fallen är så hög som 40 procent (Swedres/Svarm, 2013). SVA och Folkhälsomyndigheten kunde dock inte påvisa någon direkt koppling mellan *E. coli*-isolat från slaktkyckling och sjuka människor i en tidigare studie (Börjesson et al., 2013). En tysk studie har visat att konsumtion av kycklingkött inte är en riskfaktor för bärarskap, men att konsumtion av griskött kan vara en möjlig riskfaktor (Leistner et al., 2013). Vidare skiljer sig inte bärarskapsfrekvensen hos vegetarianer och veganer jämfört med köttätare visare en studie av Koniger et al. (2014). Konsumtion av livsmedel, bland annat kycklingkött, är en vanlig orsak för salmonellainfektion inom EU (Efsa and ECDC, 2014). Utomlands har också infektion med ESBL-bildande salmonella kopplats ihop med förekomst hos slaktkyckling och på kycklingkött (Bertrand et al., 2006; Doublet et al., 2014; Dutil et al., 2010).

ESBL_{CARBA}-bildande tarmbakterier är speciellt oroande

Bland de största orosmolnen inom svensk sjukvård idag är en utbredning av ESBL_{CARBA} (eller karbapenmaser). Karbapenemas-bildande tarmbakterier är resistent både mot cefalosporiner och karbapenemer, vilket är särskilt illavarslande då karbapenem är det antibiotika som oftast är sista alternativet vid behandling av multiresistenta bakterier. I Sverige är förekomsten låg, år 2013 rapporterades endast 38 fall och majoriteten hade en utlandskoppling (Swedres/Svarm, 2013). I övriga Europa ökar ESBL_{CARBA} snabbt, framförallt i de södra delarna (Canton et al., 2012). I Sverige har ESBL_{CARBA}-bildande bakterier inte påvisats hos djur, men i Europa har några fall beskrivits hos friska livsmedelsproducerande djur och sjuka sällskapsdjur (Woodford et al., 2014). Förekomst av ESBL_{CARBA}-bildande bakterier har också beskrivits i vattenmiljöer och avloppsvattenreningsverk (Woodford et al., 2014). Sedan 2012 är fall av ESBL_{CARBA} i Sverige anmälningspliktiga både för laboratoriet och för behandlande läkare samt att smittspårning måste utföras. Även fynd hos djur i Sverige är anmälningspliktigt och anmälan ska göras till både Jordbruksverket och Länsstyrelsen.

Utförande

Förekomsten av ESBL-bildande *E. coli* i olika delar av kretsloppet undersöktes genom att samla in och analysera prover från olika kategorier samt genom att inhämta data från tidigare undersökningar och övervakningsprogram. ESBL-bildande *E. coli* från människor, djur, livsmedel, livsmedelsproducerande djur, miljön och avloppsvatten analyserades. För att undersöka eventuella kopplingar mellan ESBL-bildande *E. coli* från de olika provkategorierna genomfördes provinsamlingarna koordinerat både tidsmässigt (2009-2013) och för vissa provtyper även geografiskt (samma kommuner). Av tabell 2 framgår vilka provtyper som ingick i de olika kategorierna samt i vilken studie proven samlats in, se även Urval och provinsamling. Isoleringen av ESBL-bildande *E. coli* från olika provtyper gjordes på likartat sätt och den efterföljande molekylära karakteriseringen utfördes med samma metoder (figur 4; se även Analyser och bilaga 2).



Figur 4. Tillvägagångssätt i denna och tidigare studier för undersökning av förekomsten av ESBL-bildande *E. coli* i olika delar av vår omgivning. Prov från olika kategorier samlades in för isolering och molekylärbiologisk karakterisering av ESBL-bildande *E. coli*. I provkategorin livsmedel undersöktes både svenska livsmedel och livsmedel som förts in från andra EU-länder eller importerats från länder utanför EU. I provkategorin miljö ingick provtyperna trutspilling och råvatten.

Tabell 2. Sammanställning av provkategorier, provtyper, ursprung, provinsamlingsperiod och referenser.

Provkategori	Provtyp	Ursprung	Tid för provinsamling (år)	Referens
Livsmedel	Bladgrönsaker	Sverige Infört Importerat Blandat ^a	2012-2013	Denna studie
	Kycklingkött	Sverige Infört Importerat	2010,2013 ^b 2010-2011 ^c	SVARM 2010 ^b Swedres/Svarm 2013 ^b Börjesson et al ^{b, d} Egervärn et al 2011 ^{b, c}
	Nötkött	Infört Importerat	2010-2011	Egervärn et al 2011
	Griskött	Infört Importerat	2010-2011	Egervärn et al 2011
	Fisk och skaldjur	Importerat	2013	Denna studie
Livsmedelsproducerande djur	Slaktkyckling	Sverige	2010-2012	SVARM 2010-2011 Swedres/Svarm 2012-2013
	Värphöns	Sverige		
	Gris	Sverige		
	Kalv	Sverige		
Människor	Friska	Sverige	2012-2013	Denna studie
	Sjuka	Sverige	2011-2012	Denna studie
Miljö	Trutspillning	Sverige	2013	Denna studie
	Råvatten	Sverige	2012	Egervärn et al 2013
Avloppsvatten	–	Sverige	2013	Denna studie

^a Salladsmix med ingredienser från minst två olika EU-länder, inklusive Sverige.

^b Svenskt kött.

^c Infört kött från andra EU-länder samt importerat kött från länder utanför EU.

^d Danskt kött

Urval och provinsamling

Livsmedel

Kartläggningen av bladgrönsaker omfattade prov från svenska produkter, produkter införda från andra EU-länder (infört) och importerade produkter från länder utanför EU (tabell 2). Till bladgrönsaker räknades alla typer av sallad och spenat samt kålväxter från vilka bladen äts. Krukodlade produkter eller sammansatta livsmedel (till exempel lunchsallader) ingick inte i kartläggningen. De produkter som ingick var oförpackade eller förpackade med eller utan skyddad atmosfär. För att ge en representativ bild av utbudet i Sverige deltog Livsmedelsverkets personal samt nio av landets största kommuner (Stockholm stad, Gävle, Helsingborg, Linköping, Malmö, Norrköping, Uppsala, Västerås och Örebro) i omgångar med att ta prov hos grossister, vid torghandel, på stormarknader och i mindre butiker. Provtagnarna uppmanrades att, om möjligt, ta prov vid flera tillfällen för att fånga årstidsvariationer. Målet var att samla in 500 prov.

Kartläggningen av livsmedel inkluderade också en pilotstudie med prover av importerad odlad fisk och odlade eller vildfångade skaldjur främst från Sydostasien (tabell 2). Frysta, icke värmebehandlade eller blancherade produkter i butiksledet samlades in för analys av Livsmedelsverkets personal. Målet var att samla in sammanlagt cirka 30 prov.

Varje livsmedelsprov omfattade minst 100 gram. Fisk-, skaldjursprodukter respektive salladspåsar av samma varumärke skulle ha olika batchnummer eller olika bäst-föredatum. Om två identiska prov samlades in och analyserades, ingick bara resultaten från det senast inkomna provet i kartläggningen. Från varje prov togs en koloni av ESBL-bildande *E. coli* ut till karaktärisering.

Även resultat från en tidigare publicerad kartläggning ingick i jämförelsen av ESBL-data mellan olika provkategorier (Egervärn et al., 2011). I den kartläggningen undersöktes förekomst av ESBL-bildande *E. coli* i kött av nöt, gris samt kyckling. Därutöver ingick även ESBL-bildande *E. coli* insamlade 2013 från en tidigare studie på färskt svenskt och danskt kycklingkött (Börjesson et al., Manuskript) (tabell 2). För urval och insamling av köttprover hänvisas till separata rapporter (Egervärn et al., 2011; SVARM, 2010).

Livsmedelsproducerande djur

För att kunna jämföra ESBL-bildande *E. coli* i livsmedel mot dito i friska livsmedelsproducerande djur, inkluderades både data på förekomst samt isolat av ESBL-bildande *E. coli* som samlats in inom den svenska veterinära övervakningen av antibiotikaresistens, SVARM¹ (tabell 2). Analyserna gjordes med selektiv odling av tarminnehåll från nöt, gris och fjäderfä (slaktkyckling och värphöns). Från varje prov togs en koloni av ESBL-bildande *E. coli* ut till karaktärisering. Mer information om provtagning finns redovisat i SVARM-rapporter 2010-2013 (SVARM, 2010, 2011; Swedres/Svarm, 2012, 2013).

Friska människor

För att undersöka förekomsten av ESBL-bildande *E. coli* i den normala tarmfloran hos Sveriges befolkning rekryterades friska frivilliga personer mellan 18 och 72 år till studien (tabell 2). De bodde i kommunerna: Stockholms stad, Göteborgs stad, Gävle, Helsingborg, Linköping, Malmö, Uppsala, Västerås och Örebro. Rekryteringen gjordes genom att cirka 11 500 slumpmässigt utvalda personer fick brev hem med en förfrågan om att delta i studien, en samtyckesblankett samt en enkät med frågor om kända riskfaktorer för bärarskap (bilaga 1). Vid en komplett ifylld och inskickad enkät samt en underskriven samtyckesblankett erhöll de frivilliga deltagarna material för avföringsprovtagning hemma. Målet var att samla in 2 000 prover. Från varje prov togs en koloni av ESBL-bildande *E. coli* ut till karaktärisering. Studien har prövats och godkänts av den lokala etikprövningsnämnden i Stockholm (diarienummer 2012/1204-31/4).

¹ Svensk veterinär antibiotikaresistens monitorering (www.sva.se)

Sjuka människor

För att jämföra med de allvarligaste infektionerna som ESBL kan orsaka, ingick i studien ett urval av *E. coli*-isolat från blod isolerade från patienter med blodförgiftning (tabell 2). Isolat som var resistenta mot cefalosporinerna ceftazidim och/eller cefotaxim samlades in från deltagande sjukhus med respektive kliniska mikrobiologiska laboratorier i Stockholm, Halmstad, Linköping, Växjö, Örebro, Skövde, Kalmar, Visby, Kristianstad, Västerås, Eskilstuna, Malmö, Borås, Gävle, Umeå, Jönköping, Lund och Sundsvall. Från varje blododling skickades ett isolat in till Folkhälsomyndigheten.

Miljön

Prov från individuella spillningar från trutar samlades in av forskare vid Institutionen för zoonotisk ekologi och epidemiologi, Linné Universitetet, Kalmar. Proven togs i Svarte Mosse i Göteborg, vid sjön Kvismaren i Örebro och ett sophanteringsområde (Spillepeng) i Malmö (tabell 2). Från varje prov togs en koloni av ESBL-bildande *E. coli* ut till karaktärisering.

I jämförelsen av ESBL-data mellan olika provkategorier ingick i miljökategori även ESBL-bildande *E. coli* isolerade från råvatten (tabell 2). För urval och insamling av råvattenprover, se separat rapport (Egervärn et al., 2013).

Avloppsvatten

Prover från avloppsvatten samlades in vid Henriksdals reningsverk i Stockholm vid 12 tillfällen (tabell 2). Proverna samlades in av forskare vid Avdelningen för mikrobiologi, tumör och cellbiologi, Karolinska institutet, Solna (Kwak et al., accepterad 2014). Reningsverket tar varje dag emot 250 000 m³ avloppsvatten från en halv miljon invånare i Stockholm. Proven togs från de dygnsprov som samlas vid reningsverket droppvis under 24 timmar. Från varje insamlat prov isolerades ett flertal bakteriekolonier. För mer utförlig beskrivning av urval och provinsamling hänvisas till Kwak et al (accepterad 2014).

Analys

Isolering av ESBL-bildande *E. coli*

För att undersöka förekomsten av ESBL-bildande *E. coli* från de olika proverna användes selektiva odlingsmedier med antibiotika (bredspektrum-cefalosporiner). Misstänkta *E. coli* artbestämdes och förmågan att producera ESBL verifierades. För utförligare metodbeskrivningar, se bilaga 2.

Karaktärisering av ESBL-bildande *E. coli*

För att avgöra hur pass lika påvisade ESBL-bildande *E. coli* var karaktäriserades isolat enligt rekommendationer från Efsa (2011a). Detta innebar att olika molekylära metoder användes för att bestämma typ av ESBL-gener, plasmidtyp (Inc)

och *E. coli* -typ (ST-typ) (faktaruta 4, figur 5). Vidare undersöktes bakteriernas känslighet mot 14 olika antibiotika för att påvisa om isolaten var multiresistenta. För utförligare metodbeskrivningar, se bilaga 2.

Statistisk analys

Beskrivande statistik användes vid analys av erhållna data för att se det eventuella överlappet mellan ESBL-bildande *E. coli* från människor, livsmedel, avlopp, miljö och livsmedelsproducerande djur. Ett överlapp skulle i sin tur indikera att spridning förekommer mellan provkategorierna. Data analyserades från de olika provkategorierna med avseende på *E. coli*-typ (ST), plasmidtyp och ESBL-gen. Resistensdata analyserades med binär logistisk regression och riskfaktorer för bärarskap beräknades med logistisk regression. För utförligare metodbeskrivningar, se bilaga 2.

Fakta 4: Molekylär karaktärisering av bakterieisolat

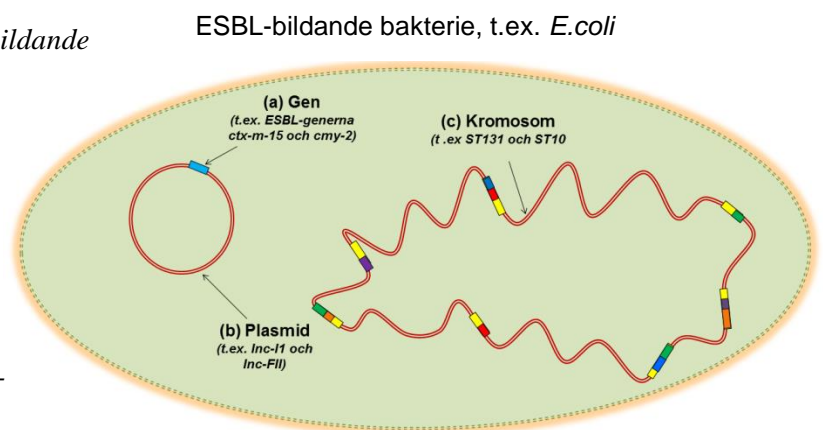
Bakterieisolat som bildar ESBL-enzym behöver karaktäriseras för att man ska veta om det sker någon spridning mellan olika provkategorier. Det räcker inte att bara veta vilken ESBL-gen som isolatet bär på utan man måste också ta reda på plasmid- och *E. coli*-typ. I den här studien har karaktäriseringen gjorts på tre nivåer, se även figur 4.

Nivå 1. Gen: Olika ESBL-enzym har olika egenskaper och förmågor att bryta ner antibiotika. Genom att analysera vilken gen av ESBL som isolatet bär på kan man se vilka provkategorier som liknar varandra. I denna rapport benämns ESBL-gener med gemener t.ex. *ctx-m-15*, *cmv-2*

Nivå 2. Plasmidtyp: De flesta ESBL-gener sitter på en plasmid. Genom att ta reda på vilken plasmidtyp (*Inc*) genen sitter på kan man avgöra om dessa gener och plasmider sprids var för sig, gemensamt eller på båda sätten.

Nivå 3. *E. coli*-typ: Gener och plasmider kan förflytta sig mellan olika *E. coli*-typer (ST). Det är viktigt att få en bild av vilka sekvenstyper (ST) som kan bära på ESBL-gener och plasmider eftersom isolat som har samma gen, plasmid och ST-typ är mycket lika.

Figur 5. Beskrivning av de olika nivåer som ingår när ett ESBL-bildande *E. coli*-isolat ska karaktäriseras, (a) ESBL-genen anger vilken ESBL-variant som isolatet producerar; (b) ESBL-genen sitter på en plasmid som kan typas (*Inc*); (c) Inom arten *E. coli* finns genetiska skillnader på kromosomen som genom typning kan delas in i olika sekvenstyper (ST).



Resultat

Förekomst av ESBL-bildande *E. coli* i olika provkategorier

Livsmedel

Sammanlagt analyserades 630 prov av bladgrönsaker från Sverige, EU och länder utanför EU (tabell 3, bilaga 3). ESBL-bildande *E. coli* påvisades i två prov (0,3 procent), båda proven bestod av ekologiska salladsmixar innehållande rucola, spenat och röd mangold från Italien. Proven kom från samma leverantör, men provtogs vid olika tillfällen, november 2012 och maj 2013 (tabell 3).

I pilotstudien av importerad fisk och skaldjur analyserades totalt 29 prov (tabell 3; bilaga 3). ESBL-bildande *E. coli* påvisades i ett av proven, fryst pangasiusfilé från Vietnam (tabell 3).

Resultat från den tidigare publicerade svenska kartläggningen av kött från nöt, gris och kyckling visade att ESBL-bildande *E. coli* förekom på kött på den svenska marknaden med varierande förekomst beroende på köttets ursprung. ESBL-bildande *E. coli* påvisades på kött av nöt (0 till 8 procent), gris (2 till 13 procent) och kyckling (23 till 95 procent) från olika områden (tabell 3) (Egervärn et al., 2011; Börjesson et al. Manuskript).

Livsmedelsproducerande djur

Förekomst av ESBL-bildande *E. coli* hos svenska livsmedelsproducerande djur analyserades under perioden 2010-2012 inom den svenska övervakningen av antibiotika resistens, SVARM. ESBL-bildande *E. coli* påvisades med selektiv odling i tarminnehåll från 32 procent av slaktkycklingar (SVARM, 2010), 2 procent av grisar (SVARM, 2011), 1 procent av kalvar samt 13 procent av värphöns (Swedres/Svarm, 2012) (tabell 3). De isolat av ESBL-bildande *E. coli* som samlats in inom SVARM har använts i denna studie.

Friska människor

Av de 2 589 friska personer som svarade på enkäten skickade 2 134 in ett avföringsprov. ESBL-bildande *E. coli* isolerades från 101 av dessa personer, vilket ger ett bärarskap på 4,8 procent (tabell 3). I undersökningen ingick personer mellan 18 och 72 år, med en överrepresentation av äldre svarande. Det var också fler kvinnor än män som deltog i studien, 1 230 respektive 892. Bärarskapet var något högre hos män än hos kvinnor (5,1 respektive 4,5 procent), men skillnaden var inte statistiskt signifikant.

Identifierade signifikanta riskfaktorer för bärarskap var resa utanför Norden under de senaste sex månaderna samt vård utomlands, inklusive Norden. Det senare värdet bör dock tolkas med försiktighet eftersom antalet studiedeltagare som sökt vård utomlands var lågt.

Sjuka människor

Åren 2011 och 2012 fick Folkhälsomyndigheten via landets kliniska mikrobiologiska laboratorier in 715 anmälningar i SmiNet² av misstänkt ESBL-bildande *E. coli* isolerade från blodförgiftningar. Av dessa insamlades i denna studie 387 isolat som var bekräftat ESBL-positiva och som sedan ingick i jämförelsen av ESBL-bildande *E. coli* mellan olika provkategorier (tabell 3).

Miljö

Totalt togs 273 spillningsprov från trutar, varav 99 i Örebro, 100 i Malmö och 74 i Göteborg. ESBL-bildande *E. coli* påvisades i 29 prov, vilket ger en förekomst på 11 procent (tabell 3). Dessa prov ingick även som en del av en annan studie. Därför odlades dessa prov på medium som till viss del hämmar bakterier som bildar AmpC-enzym, vilket kan medföra att andelen ESBL-positiva isolat i denna kategori kan vara underskattad.

I denna sammanställning ingår även prov från en tidigare svensk kartläggning där förekomsten av ESBL-bildande *E. coli* i 98 råvattenprov från fem svenska vattenverk undersöktes (Egervärn et al., 2013). ESBL-bildande *E. coli* påvisades i 27 vattenprov, varav 25 av dessa togs vid två av de fem vattenverken (tabell 3).

Avloppsvatten

Totalt identifierades 55 olika ESBL-bildande *E. coli*-isolat från alla de 12 prov av orenat avloppsvatten som samlats in (tabell 3) (Kwak et al., accepterad 2014). Eftersom avloppsproven samlades in droppvis från ett konstant flöde under 24 timmar, så var risken liten att identifiera samma ESBL-bildande *E. coli* från samma prov.

² Elektroniskt anmälningssystem för anmälningspliktiga smittsamma sjukdomar enligt smittskyddslagen (www.sminet.se/antal)

Tabell 3. Antalet insamlade prov och antalet (%) positiva prov för ESBL-bildande E. coli.

Provkategori	Provtyp	Ursprung	Antal prov	Antal positiva (%)
Livsmedel	Bladgrönsaker	Sverige	147	0 (0)
		Infört	365	2 (0,5)
		Importerat	10	0 (0)
		Blandat ^a	108	0 (0)
		Totalt	630	2 (0,3)
	Kycklingkött	Sverige	159	74 (47)
		Infört	109	42 (38) ^b
		Importerat	43	41 (95)
		Totalt	311	157 (51)
	Nötkött	Infört	136	8 (6) ^c
		Importerat	42	0 (0)
		Totalt	178	8 (4)
	Griskött	Infört	119	8 (7) ^d
Fisk och skaldjur	Importerat	29	1 (3)	
	Livsmedel totalt		1 267	176 (14)
Livsmedels- producerande djur	Slaktkyckling	Sverige	100	32 (32)
	Vårphöns		69	9 (13)
	Gris		184	3 (2)
	Kalv		742	9 (1)
	Djur totalt		1 095	53 (5)
Människor	Friska	Sverige	2134	101 (5)
	Sjuka		387 ^e	387 (100)
Miljö	Trutspillning	Sverige	273	29 (11)
	Råvatten		98	27 (28)
		Miljö totalt	371	56 (15)
Avloppsvatten	–	Sverige	12	12 (100)^f

^a salladsmix med ingredienser från minst två olika EU-länder, inklusive Sverige.

^b varierar mellan 23-61 procent mellan olika EU-länder.

^c varierar mellan 0-8 procent mellan olika EU-länder.

^d varierar mellan 2-13 procent mellan olika EU-länder.

^e totalt 387 prov av bekräftat ESBL-positiva blodisolat från sjuka personer samlades in.

^f totalt 55 ESBL-positiva isolat erhöles från dessa 12 positiva prov.

Likheter och fördelning av ESBL-bildande *E. coli* från livsmedel, livsmedelsproducerande djur, människor, miljö och avloppsvatten

För att ta reda på hur lika populationerna av ESBL-bildande *E. coli* från olika kategorier är, karaktäriserades de påvisade bakterierna (faktaruta 4). Karaktäriseringen gjordes genom att undersöka om isolaten från olika provkategorier hade:

- Samma ESBL-gen, t.ex. ctx-m-15
- Samma ESBL-gen på samma plasmid-typ (Inc), t.ex. ctx-m-15/IncII
- Samma ESBL-gen på samma plasmid i samma *E. coli*-typ (ST-typ), t.ex. ctx-m-15/IncII/ST10

För varje punkt ovan ökar graden av differentiering mellan isolaten, det vill säga isolat som har samma ESBL-gen/plasmid-typ/ST-typ är genetiskt mycket mer lika varandra än isolat som bara har samma ESBL-gen. Därutöver undersöktes om isolaten var multiresistenta, vilket innebär resistens mot fler än tre olika antibiotikaklasser.

För att specifikt undersöka livsmedels roll som källa och möjlig spridningsväg till människa redovisas nedan fördelningen av ESBL-gener, plasmid-typer och ST-typer inom provkategorierna. Jämförelsen har utgått ifrån vad som var vanligast förekommande i livsmedelsproverna och som dessutom återfanns hos människor.

ESBL-gener

Översiktligt så grupperas isolaten från svenska livsmedel med isolaten från livsmedelsproducerande djur eftersom de hade en mycket lik profil på gennivå (figur 6). Däremot skilde införda/importerade livsmedel sig från denna grupp. Isolaten från friska och sjuka människor, miljö och avloppsvatten bildade ytterligare en tydlig grupp där fördelningen av gener liknade varandra (figur 6).

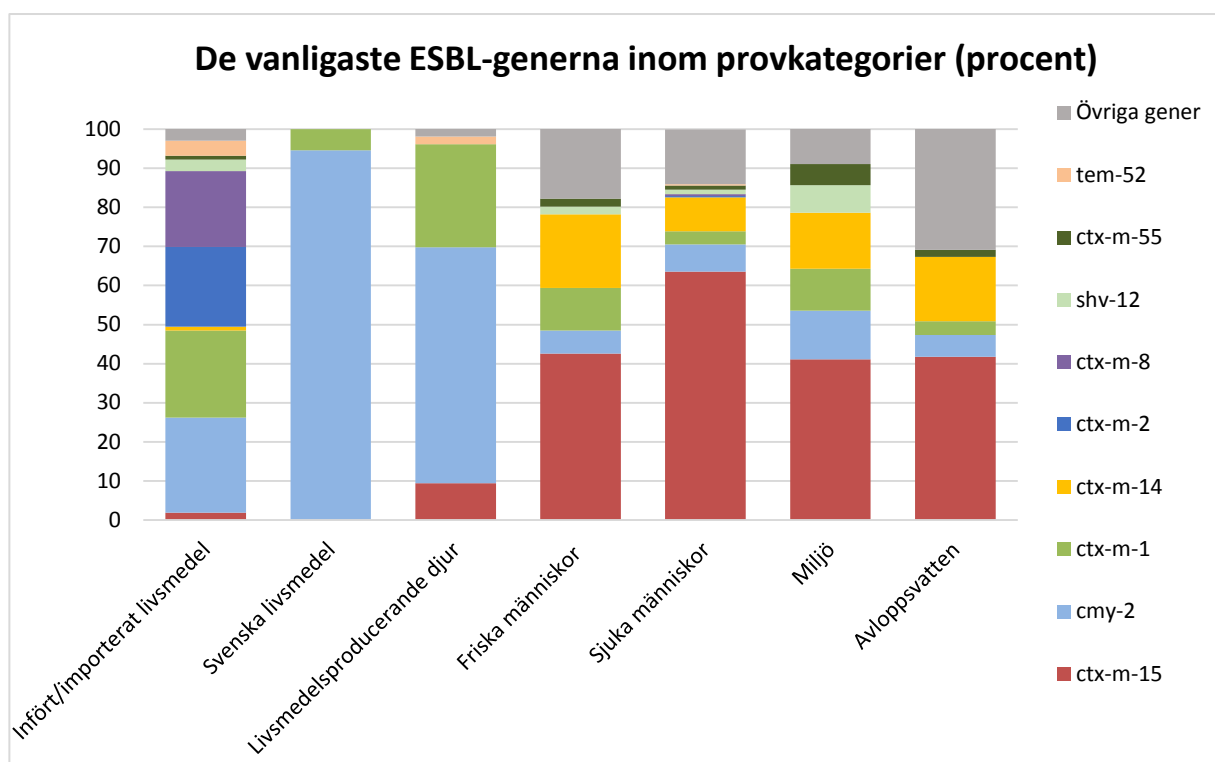
Den procentuella fördelningen av olika ESBL-gener i de olika provkategorierna redovisas i tabell 4. Den vanligaste ESBL-genen i livsmedel och som dominerade på svenska livsmedel (kycklingkött) var cmy-2. Denna ESBL-gen förekom i cirka en fjärdedel av utländska livsmedel och var dessutom vanligast bland isolaten från svenska livsmedelsproducerande djur, framförallt fjäderfä.

Bland *E. coli* från friska och sjuka människor var istället ctx-m-15 den vanligast förekommande genen. Denna gen fanns inte i ESBL-bildande *E. coli* som isolerats från svenska livsmedel, men förekom i ESBL-bildande *E. coli* isolerade från en liten andel av infört/importerat livsmedel (nötkött). Den utgjorde också en lägre andel av ESBL-generna från livsmedelsproducerande djur (kalvar och grisar). I miljö- och avloppsvattenproverna dominerade genen ctx-m-15, men isolat med cmy-2 förekom också, dock i lägre omfattning (figur 6).

ESBL-genen *ctx-m-1* förekom i alla provkategorier (figur 6). Denna gen var vanligt förekommande i införda/importerade livsmedel, svenska livsmedelsproducerande djur, friska människor och i miljön, men var ovanligare hos sjuka människor och avloppsvatten. Den påvisades även i de två ESBL-positiva proven från bladgrönsaker.

Andra ESBL-gener som påvisades i *E. coli* från flera provkategorier var *ctx-m-55*, *shv-12* och *tem-52*, men förekomsten var generellt låg. Det enda *ctx-m-55*-positiva isolatet från livsmedel var från importerad pangasiusfilé. Denna ESBL-gen var ovanlig hos människor.

Genvarianterna *ctx-m-2* och *ctx-m-8* var vanliga i isolat från importerat/infört livsmedel, främst brasilianskt kycklingkött, men återfanns i låg förekomst hos isolaten från sjuka människor. Generna *ctx-m-14* och *ctx-m-27* förekom nästan uteslutande i isolaten från människor, miljön och avloppsvatten, endast ett prov av infört griskött innehöll *ctx-m-14*.



Figur 6. Fördelning av olika ESBL-gener inom och mellan respektive provkategori. Urvalet av de typer som redovisas med genbeteckning är baserat på de genuppsättningar som var vanliga hos livsmedelsisolat och som dessutom återfanns hos *E. coli* från människor.

Tabell 4. Fördelning av ESBL-gener inom de olika provkategorierna i procent samt antal analyserade *E. coli*-isolat (n). Urvalet av de ESBL-gener som redovisas med genbeteckning är baserat på de som återfanns hos livsmedelsisolat och som dessutom återfanns hos *E. coli* från människor.

Gen	Infört/ importerat livsmedel	Svenska livsmedel	Livsmedels- producerande djur	Friska människor	Sjuka människor	Miljö	Avlopps- vatten
	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)
ctx-m-15	2 (2)	0	9 (5)	43 (43)	64 (241)	41 (23)	42 (23)
cmv-2	24 (25)	95 (70)	60 (32)	6 (6)	7 (26)	13 (7)	6 (3)
ctx-m-1	22 (23)	5 (4)	26 (14)	11 (11)	3 (13)	11 (6)	4 (2)
ctx-m-14	1 (1)	0	0	19 (19)	9 (33)	14 (8)	16 (9)
ctx-m-2	20 (21)	0	0	0	0,3 (1)	0	0
ctx-m-8	19 (20)	0	0	0	0,5 (2)	0	0
shv-12	2 (3)	0	0	2 (2)	1 (4)	7 (4)	0
ctx-m-55	1 (1)	0	0	2 (2)	1 (4)	5 (3)	2 (1)
tem-52	4 (4)	0	2 (1)	0	0,3 (1)	0	0
Övriga gener	2 (2)	0	2 (1)	18 (18)	14 (54)	9 (5)	31 (17)
Totalt antal n=820	102	74	53	101	379 ^a	56	55 ^b

^a 379 av 387 isolat gick att typa avseende ESBL-gen

^b 55 isolat från 12 avloppsvattenprov

ESBL-gener och tillhörande plasmider

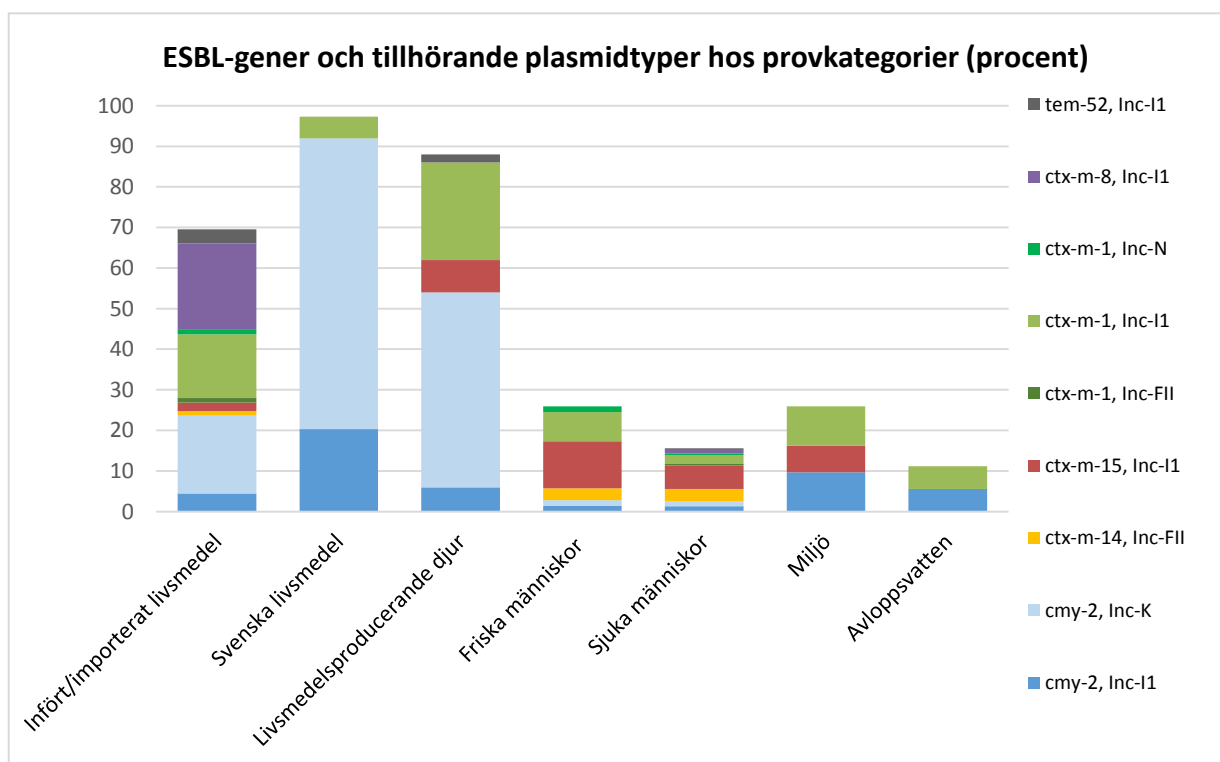
Alla ESBL-bildande *E. coli*-isolat gick av både biologiska och analystekniska anledningar inte att plasmidtypa. Därför är antalet isolat med gen/plasmid lägre än antal isolat där enbart ESBL-genen bestämts (tabell 4 och 5).

Den procentuella fördelningen av olika ESBL-gener/plasmidtyp i de olika provkategorierna redovisas i tabell 5. ESBL-gener som påvisades hos *E. coli* från livsmedel och människor var ibland kopplade till samma plasmidtyp (figur 7). *E. coli* från svenska livsmedel (kycklingkött) bildade dock en egen grupp eftersom den innehöll begränsat antal ESBL-gen/plasmid kombinationer (figur 7). Införda/ importerade livsmedel hade också en egen profil medan friska- och sjuka människor, miljö och avloppsvatten var mer lika sinsemellan i sina profiler (figur 7).

Den vanligaste kombinationen av ESBL-gen/plasmidtyp hos *E. coli* från livsmedel och livsmedelsproducerande djur var cmv-2/IncK, men cmv-2/IncII och ctx-m-1/IncII förekom också. Dessa tre kombinationer återfanns även hos isolaten från friska och sjuka människor, men i lägre omfattning (tabell 5). Kombinationen cmv-2/IncII och ctx-m-1/IncII förekom hos *E. coli* från samtliga provkategorier. Hos isolat från friska och sjuka människor återfanns genen cmv-2 även på flera andra plasmidtyper.

Hos isolaten från människor dominerade ctx-m-15 kopplad till olika IncF-plasmider, vilket inte förekom i isolat från livsmedel eller djur. Genen ctx-m-15 var också i lägre omfattning kopplad till en IncII-plasmid hos friska och sjuka människor. Denna kombination fanns i två livsmedelsprov (infört nötkött) och fyra från livsmedelsproducerande djur (tabell 5).

Kombinationen ctx-m-55/IncFII, som påvisades i isolatet från det enda ESBL-positiva provet från importerad fisk, förekom inte alls hos ESBL-bildande *E. coli* från människor. ESBL-genen ctx-m-27, som hittades i isolat från människor, miljö och avloppsvatten, var enbart kopplad till olika typer av IncF plasmider. ESBL-genen ctx-m-14 var kopplad till ett flertal olika plasmider, bland annat IncFII hos friska och sjuka människor. I det enda isolatet med ctx-m-14 från livsmedel (infört griskött) satt ESBL-genen också på en IncFII plasmid (figur 7, tabell 5).



Figur 7. Fördelning av ett urval av ESBL-gener med tillhörande plasmider inom respektive provkategori. Urvalet av de kombinationer som visas är baserat på de profiler som var vanliga hos livsmedelsisolat och som dessutom återfanns hos *E. coli* från människor. Resterande andel, upp till 100 procent, utgjordes av övriga ESBL-plasmidkombinationer som varierade mellan och inom kategorierna.

Tabell 5. ESBL-gen/plasmid (Inc)-kombinationer inom de olika provkategorierna. Fördelningen anges i procent samt antal analyserade *E. coli*-isolat (n). Urvalet av de genuppsättningar som är redovisade baseras på de profiler som fanns i *E. coli* hos både livsmedel och människor.

Gen och plasmid	Infört /importerat livsmedel	Svenska livsmedel	Livsmedelsproducerande djur	Friska människor	Sjuka människor	Miljö	Avloppsvatten
	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)
cmy-2/ IncK	19 (17)	72 (53)	48 (24)	1 (1)	1 (3)	0	0
ctx-m-1/ IncI1	16 (14)	5 (4)	24 (12)	7 (5)	2 (5)	10 (3)	6 (1)
cmy-2/ IncI1	5 (4)	20 (15)	6 (3)	1 (1)	1 (3)	10 (3)	6 (1)
ctx-m-15/ IncI1	2 (2)	0	8 (4)	12 (8)	6 (13)	7 (2)	0
ctx-m-8/ IncI1	21 (19)	0	0	0	1 (2)	0	0
ctx-m-1/ IncFII	1 (1)	0	0	0	0,4 (1)	0	0
ctx-m-14/ IncFII	1 (1)	0	0	3 (2)	3 (7)	0	0
tem-52/ IncI1	3 (3)	0	2 (1)	0	0,4 (1)	0	0
ctx-m-1/ IncN	1 (1)	0	0	1 (1)	0,4 (1)	0	0
Övriga komb.	31 (27)	3 (2)	12 (6)	74 (51)	84,4 (194)	73 (23)	88 (16)
Totalt antal n=561^a	89	74	50	69	230	31	18

^a För en andel isolat har plasmidtyp ej kunnat bestämmas. Därav skillnad i totalt antal typade jämfört med tabell 4.

ESBL-gener och tillhörande plasmider i olika *E. coli*-typer (ST)

Plasmiderna, som var kopplade till ESBL-generna, förekom i *E. coli* tillhörande många olika sekvenstyper (ST) (faktaruta 3). Sammanlagt identifierades fler än 150 olika STs bland de 778 isolat där ST kunde identifieras. För livsmedel var ST10 (19 procent), ST38 (21 procent) och ST155 (11 procent) vanligt förekommande. Hos livsmedelsproducerande djur var ST10 (13 procent) följt av ST68 och ST57 (vardera 8 procent) vanliga. Hos friska och sjuka människor var ST131 (17 respektive 44 procent), men även ST10 (8 respektive 4 procent) samt ST38 (10 respektive 8 procent) vanligt förekommande. ST10 (17 respektive 6 procent), ST38 (8 respektive 21 procent) samt ST131 (4 respektive 21 procent) identifierades även i miljö och avloppsvatten.

Ingen specifik kombination av gen/plasmid/ST hittades i samtliga provkategorier. Däremot utgjorde ”övriga kombinationer” en stor andel (86-100 procent) i alla kategorier. Dock återfanns de tre kombinationerna ctx-m-15/IncII/ST10, ctx-m-1/IncII/ST155 och cmy-2/IncK/ST57 hos isolat från infört/importerat livsmedel, livsmedelsproducerande djur samt hos människor (tabell 6).

Isolat med kombinationen ctx-m-15/IncII/ST10 återfanns i två prov av infört nötkött, hos två friska människor, en sjuk människa och hos en svensk kalv. Kombinationen ctx-m-1/IncII/ST155 återfanns hos ett prov av infört kycklingkött, tre svenska kycklingar och en frisk människa. Kombinationen cmy-2/IncK/ST57 återfanns hos två prov av infört kycklingkött, tre svenska kycklingar och en frisk människa (tabell 6).

Hos sjuka människor var ctx-m-15/olika IncF/ST131 och ctx-m-27/olika IncF/ST131 vanliga kombinationer, med 20 respektive 13 procent av fallen. Dessa två kombinationer förekom också i fem respektive två procent hos friska människor, men påvisades varken hos livsmedel, livsmedelsproducerande djur eller miljö. Däremot förekom ctx-m-27/olika IncF/ST131 bland två procent av ESBL-isolaten från avloppsvatten.

Generellt kan man säga att *E. coli*-isolaten från provtyperna sjuka och friska människor i större utsträckning var lika varandra (gen/plasmid/ST) och att provtyperna svenskt kycklingkött och slaktkycklingar påminde om varandra.

Tabell 6. *Fördelning av ESBL-gen/plasmid (Inc)/E. coli-typ (ST) kombinationer som återfanns i livsmedel och andra provkategorier. Fördelningen anges i procent och antal analyserade E. coli-isolat(n). Urvalet av de kombinationer som visas baseras på de profiler som fanns hos livsmedelsisolat och som dessutom återfanns hos E. coli från människor.*

Gen, plasmid, <i>E. coli</i> -typ	Infört/importerat livsmedel	Svenska livsmedel	Livsmedelsproducerande djur	Friska människor	Sjuka människor	Miljö	Avloppsvatten
	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)
ctx-m-15/IncII/ST10	2 (2)	0	2 (1)	3 (2)	0,5 (1)	0	0
cmy-2/IncK/ST57	2 (2)	0	6 (3)	2 (1)	0	0	0
ctx-m-1/IncII/ST155	1 (1)	0	6 (3)	2 (1)	0	0	0
Övriga komb.	95 (84)	100 (72)	86 (43)	93 (55)	99,5 (211)	100 (29)	100 (16)
Totalt antal n=527^a	89	72	50	59	212	29	16

^a För en andel isolat har plasmidtyp och ST inte kunnat bestämmas. Därav skillnad i totalt antal typade jämfört med tabell 4 och 5.

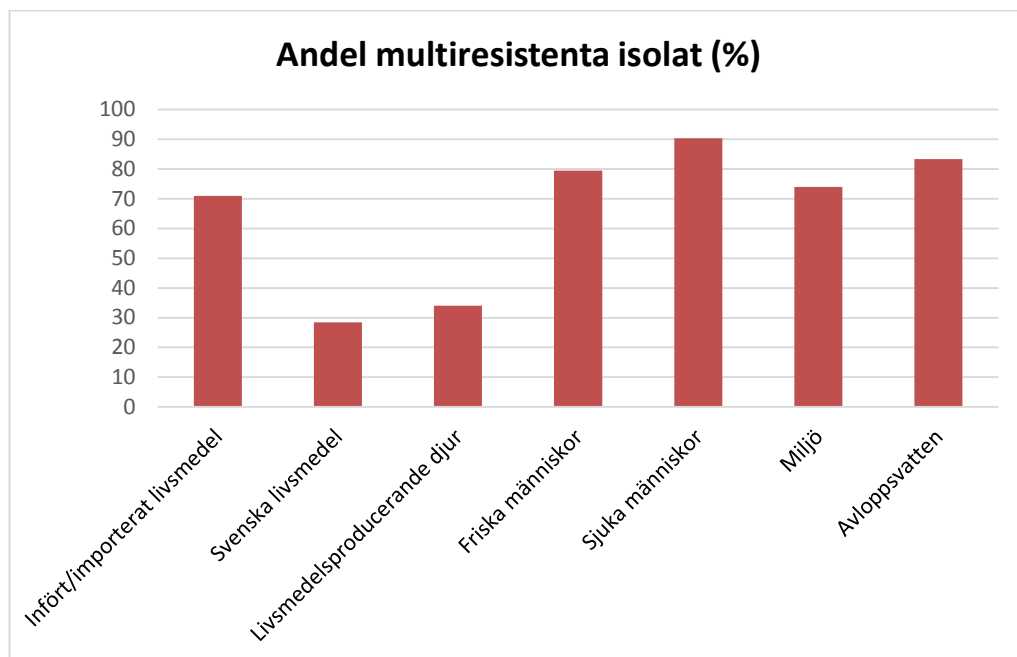
Multiresistens

E. coli-isolaten från de olika provkategorierna var resistenta mot antibiotika i varierande grad. Alla isolat var resistenta mot minst en cefalosporin, vilket ESBL-genen i *E. coli*-isolaten ger upphov till. Andelen multiresistenta isolat, det vill säga resistens mot tre eller fler antibiotikaklasser, var högst hos sjuka människor följt av avlopp, friska människor, miljö och införda/importerade livsmedel

(figur 8). Resistens mot kinoloner, aminoglykosider, tetracyclin, trimetoprim och sulfa var överlag vanligt förekommande medan resistens mot colistin och florfenikol var ovanligt.

Multiresistenta isolat förekom också hos proven från svenska livsmedelsproducerande djur och svenska livsmedel, men i betydligt lägre omfattning jämfört med övriga provkategorier (figur 8).

Två ESBL-bildande blodisolat från patienter var också resistenta mot karbapenemer och hade också tidigare identifierats som ESBL_{CARBA}-bildande *E. coli*. Inga *E. coli* med ESBL_{CARBA} påvisades i övriga analyserade prover från någon kategori.



Figur 8. Andelen multiresistenta ESBL-bildande *E. coli*-isolat per provkategori.

Diskussion

Finns ESBL-bildande E. coli i livsmedel?

Resultaten från denna och en tidigare studie (Egervärn et al., 2011) visar att ESBL-bildande *E. coli* förekom i varierande grad i olika typer av livsmedel. Bakterierna var framför allt vanliga på kycklingkött, både av svenskt och utländskt ursprung, men fanns även på infört och importerat kött från nöt och gris. De ESBL-bildande *E. coli* som påvisats i svenskt kycklingkött bar på samma gen i samma plasmid och tidigare smittspårningsarbete tyder på att orsaken till förekomsten är vertikal överföring i produktionspyramiden från importerade djur (Nilsson et al., 2014). Mycket få ESBL-bildande *E. coli* hittades i bladgrönsaker, vilket överensstämmer med flera andra internationella studier (Egea et al., 2011; Hassan et al., 2011; Reuland et al., 2014; Skockova et al., 2013). Resultaten är dock inte direkt jämförbara eftersom olika odlingsmetoder har använts och tidigare studier ofta analyserat för andra tarmbakterier än bara *E. coli*. Uppskattningsvis en dryg tredjedel av proven från bladgrönsaker innehöll *E. coli*-bakterier (Egervärn and Flink, 2014), vilket tyder på att andelen *E. coli* med ESBL var låg i bladgrönsaker. Ett fynd av ESBL-bildande *E. coli* gjordes också i prov från importerad odlad pangasiusfisk. Efsa (2011a) har tidigare påpekat att det saknas data över förekomsten av ESBL-bildande tarmbakterier i såväl vegetabilier som i fisk och skaldjur. En uppföljande, större kartläggning av fisk och skaldjur är därför angelägen.

Blir vi sjuka av samma ESBL-bildande E. coli som hittas i livsmedel?

Karaktäriseringen av ESBL-gener och tillhörande plasmider samt typen av *E. coli*-bakterie visade ett litet överlapp mellan de ESBL-bildande isolat som hittades i livsmedel och de som hittades bland sjuka människor. I nuläget sker det enligt dessa data en mycket begränsad spridning av ESBL direkt mellan livsmedel och sjuka människor i form av samma *E. coli*-typ med samma ESBL gen, på samma plasmidtyp. När det gäller själva ESBL-generna så skulle spridning mellan livsmedel och sjuka människor kunna spela en roll för de vanligaste genvarianterna i livsmedel, *cmy-2* och *ctx-m-1*. Däremot går det inte uttala sig om vare sig omfattning eller riktning på spridningen. Andra studier har också beskrivit att kött, inkluderat kycklingkött, inte verkar vara en betydande källa för förekomst av ESBL-bildande bakterier hos människor (Belmar Campos et al., 2014; Carmo et al., 2014). Det har också visats att konsumtion av kött inte är en riskfaktor för att få urinvägsinfektion med ESBL-bildande tarmbakterier (Soraas et al., 2013). I kontrast till ovanstående resultat har nederländska studier beskrivit identiska ESBL-varianter hos *E. coli* bakterier från kycklingkött, slaktkyckling och patienter. Forskarna drar slutsatsen att upp till 40 procent av kliniska isolat kan ha sitt ursprung från slaktkyckling och kycklingkött (Kluytmans et al., 2013; Leverstein-van Hall et al., 2011). Uppföljande studier med högupplösliga typ-

ningsmetoder som sekvenserar hela arvsmassan visar dock att spridning troligen inte är direkt (de Been et al., 2013).

I den här studien återfanns ett mindre antal mycket genetiskt lika ESBL-bildande isolat bland prover från livsmedel och friska människor. Huruvida isolaten hos de friska människorna har spridits från livsmedel kan vi inte veta från den här studien, men det står klart att mycket lika ESBL-bildande *E. coli* kan existera i båda dessa miljöer. Det finns få studier att jämföra med och den här studien bidrar med viktiga nya data att utgå ifrån för framtida undersökningar. Det är angeläget för att få en uppfattning om spridningsriktning och för att få en tydligare bild av livsmedels eventuella påverkan på ESBL hos människor.

Hur cirkulerar ESBL bildande E. coli i vår omgivning?

Spridningsmönstret för ESBL är komplext där både ESBL-gener, ESBL-gener på olika plasmidtyper och bakterietyper kan spridas. Det är därför svårt att visa hur och i vilken riktning resistensen sprids. Att som i denna studie undersöka förekomsten av och likheter mellan ESBL-bildande *E. coli* i olika provkategorier kan ett indirekt mått på spridning av ESBL-bildande *E. coli*, med dess gener och plasmider, mellan olika miljöer erhållas. Även om endast några få av de *E. coli* bakterier som hittades var av samma slag, var själva ESBL-generna mer spridda mellan olika provkategorier. Det visar på vikten av att kunna uppskatta betydelsen av överföring av enbart ESBL-gener mellan olika *E. coli*-typer samt vilken betydelse den genbärande plasmiden spelar i sammanhanget.

Jämförelsen av ESBL-gener visade att *E. coli* från svenska livsmedel och livsmedelsproducerande djur i stor utsträckning innehöll samma gener. Införda och importerade livsmedel skilde däremot sig från svenska livsmedel och livsmedelsproducerande djur, vilket inte är förvånande då epidemiologin för ESBL skiljer sig runt om i världen. På motsvarande sätt var isolaten från människor, miljön och avloppsvatten likartade. Detta tyder på att det i dagsläget finns tre i stort separerade populationer av ESBL-bildande *E. coli* en för svenska livsmedel och livsmedelsproducerande djur, en för importerade/införda livsmedel och en för människa. Det indikerar också att sjuka, och till viss del även friska människor utgör källan för de ESBL-bildande bakterier som hittas i avlopp och miljö.

I den här studien, som är den hittills största bärarskapsstudien som genomförts bland den friska befolkningen i Sverige, var förekomsten av ESBL-bildande *E. coli* cirka 5 procent, vilket överensstämmer med tidigare svenska och europeiska studier (Chabok et al., 2010; Strömdahl et al., 2011; Woerther et al., 2013). Precis som i den svenska undersökningen av Tängdén et al. (2010) utgjorde resor utanför Norden de senaste månaderna en ökad risk för bärarskap. Med en ökad andel ESBL-bärare i samhället, så ökar också risken för ESBL-bildande bakterier bland de som orsakar infektioner. Med god uppfattning om hur vanligt det är att människor bär på ESBL, så kan det underlätta för sjukvården att anpassa sin beredskap för ESBL-infektioner. Det är därför av vikt att fortsätta studier initieras för att

studera bärarskap då förekomsten av ESBL-bildande tarmbakterier är mycket hög i många länder. Ett scenario som man oroar sig för inom humansjukvården är att bärarskapet av ESBL_{CARBA} ska öka på ett liknande sätt som skett med ESBL_A och ESBL_M. Detta skulle få drastiska konsekvenser bland annat eftersom vanliga infektioner då blir ännu mer svårbehandlade om inte kraftiga motåtgärder sätts in.

Är ESBL-bildande *E. coli* även resistenta mot andra antibiotikaklasser?

En hög andel av ESBL-bildande *E. coli* från de olika provkategorierna var som förväntat resistenta mot ytterligare antibiotikaklasser utöver cefalosporiner. Isolaten från svenska livsmedelsproducerande djur och svenskt kött var i lägre grad multiresistenta än de från infört och importerat kött. Det kan spegla att Sverige jämfört med många andra länder har en mycket låg antibiotikaförbrukning hos djur som hålls för livsmedelsproduktion (EMA, 2014). Isolaten från friska och sjuka människor hade båda höga andelar multiresistens. I båda dessa provkategorier fanns vissa ESBL-gener och plasmider som ofta var kopplade till multiresistens, till exempel ctx-m-15 på olika IncF-plasmider (resultat ej redovisade). Denna grupp av gen/plasmid hittades också i miljön och i avloppsvatten, vilket kan förklara varför deras nivåer av multiresistens också var ganska höga.

Finns ESBL-bildande *E. coli* spridda i miljön?

ESBL-bildande *E. coli* har tidigare visats vara vanligt förekommande i vissa svenska råvatten (Egervärn et al., 2013) och förekom, inte oväntat, i vart tionde spillningsprov från trutar. Resultaten stämmer överens med data över förekomsten av *E. coli* med ESBL av CTX-M-typ hos trutar i olika delar av Sverige (Bonne-dahl et al., 2010; Wallensten et al., 2011) och ger tillsammans med fynden i råvatten en bild av förekomsten av ESBL-bildande *E. coli* i miljön i Sverige.

Ytterligare en indikator på att denna typ av resistens är spridd i vår omgivning är fynden av ESBL-bildande *E. coli* i orenat avloppsvatten, vilket även flera internationella undersökningar har rapporterat (Galvin et al., 2010; Korzeniewska et al., 2013; Reinthaler et al., 2010). Kwak et al. (accepterad 2014) undersökte flödet av *E. coli* och ESBL-bildande *E. coli* i orenat avloppsvatten från Henriksdals reningsverk i Stockholm. I studien konstaterades att även om 99,93 procent av *E. coli*-bakterierna renas bort betyder det fortfarande att 12 miljoner ESBL-bildande *E. coli* släpps ut i Östersjön varje sekund. Vad det sedan blir av dessa bakterier vet vi i dagsläget inget om, kanske klarar de inte av att konkurrera med de bättre anpassade bakterierna i östersjövattnet. Resultaten pekar ändå på att renat avloppsvatten utgör en möjlig brygga för spridning av ESBL-bildande *E. coli* mellan människor och miljön, men mer forskning behövs på detta område.

Slutord

Sammanfattningsvis bekräftar studien att ESBL-bildande *E. coli* förekommer i vår omgivning hos såväl människor och djur som i livsmedel, miljön och avloppsvatten. Livsmedel på den svenska marknaden ser ut att i dagsläget utgöra en begränsad källa till den ESBL-problematik som finns inom sjukvården. Att samma typer av ESBL-gener och plasmider ändå förekom i låg omfattning hos *E. coli* både från livsmedel och människor talar för att resistenstypen kan spridas mellan livsmedel och människor.

Studien ger en ögonblicksbild av hur det ser ut i Sverige idag med ESBL-bildande *E. coli* i vår omgivning. Historiskt sett har det skett snabba skift i spridningsmönstret, särskilt för ESBL-gener då bakterier och resistensgener är dynamiska och resistensläget snabbt kan ändras. Förekomsten av ESBL-bildande tarmbakterier i livsmedel och i vår omgivning behöver därför följas kontinuerligt både i Sverige och i andra länder. Att begränsa resistensspridning och bevara effekten av antibiotika är en av vår tids största utmaningar.

Finansiering

Myndigheten för samhällsskydd och beredskap (MSB; anslag 2:4 krisberedskap) var huvudfinansiär och stod för merparten av kostnaderna, inklusive Livsmedelsverkets provinköp samt utgifter för transport, metodutveckling och analyser. Utgifter i samband med provtagning bekostades av respektive provtagande kommun.

Tack!

Ett stort tack riktas till alla kommuner som deltagit med provtagning av bladgrön-saker, till alla frivilliga som deltagit i bärarskapsstudien samt till alla sjukhus och regionala sjukhuslaboratorier som bidragit med bakterieisolat från sjuka människor. Vi vill också tacka Jonas Bonnedahl och Johan Stedt vid Linné Universitetet för provtagning av trutspillning samt Inger Kühn, Roland Möllby och Patricia Colque vid Karolinska institutet för provtagning av avloppsvatten.

Referenser

- Alsterlund, R., Axelsson, C., Olsson-Liljequist, B., 2012, Long-term carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 44, 51-54.
- Andersson, D.I., Hughes, D., 2014, Microbiological effects of sublethal levels of antibiotics. *Nature Reviews Microbiology* 12, 465-478.
- Belmar Campos, C., Fenner, I., Wiese, N., Lensing, C., Christner, M., Rohde, H., Aepfelbacher, M., Fenner, T., Hentschke, M., 2014, Prevalence and genotypes of extended spectrum beta-lactamases in Enterobacteriaceae isolated from human stool and chicken meat in Hamburg, Germany. *International Journal of Medical Microbiology* 304, 678-684.
- Bertrand, S., Weill, F.X., Cloeckaert, A., Vrints, M., Mairiaux, E., Praud, K., Dierick, K., Wildemaue, C., Godard, C., Butaye, P., Imberechts, H., Grimont, P.A., Collard, J.M., 2006, Clonal emergence of extended-spectrum beta-lactamase (CTX-M-2)-producing *Salmonella enterica* serovar Virchow isolates with reduced susceptibilities to ciprofloxacin among poultry and humans in Belgium and France (2000 to 2003). *Journal of Clinical Microbiology* 44, 2897-2903.
- Bonnedahl, J., Drobni, P., Johansson, A., Hernandez, J., Melhus, A., Stedt, J., Olsen, B., Drobni, M., 2010, Characterization, and comparison, of human clinical and black-headed gull (*Larus ridibundus*) extended-spectrum beta-lactamase-producing bacterial isolates from Kalmar, on the southeast coast of Sweden. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 65, 1939-1944.
- Brolund, A., Franzen, O., Melefors, O., Tegmark-Wisell, K., Sandegren, L., 2013, Plasmidome-analysis of ESBL-producing *Escherichia coli* using conventional typing and high-throughput sequencing. *Public Library of Science One* 8, e65793.
- Börjesson, S., Bengtsson, B., Finn, M., Englund, S., Manuskript, Characterization of transferable genes encoding extended-spectrum cephalosporinases in *Escherichia coli* isolated from Danish and Swedish chicken meat.
- Börjesson, S., Jernberg, C., Brolund, A., Edquist, P., Finn, M., Landen, A., Olsson-Liljequist, B., Tegmark Wisell, K., Bengtsson, B., Englund, S., 2013, Characterization of plasmid-mediated AmpC-producing *E. coli* from Swedish broilers and association with human clinical isolates. *Clinical Microbiology and Infections* Epub date 2013/04/16.
- Canton, R., Akova, M., Carmeli, Y., Giske, C.G., Glupczynski, Y., Gniadkowski, M., Livermore, D.M., Miriagou, V., Naas, T., Rossolini, G.M., Samuelsen, O., Seifert, H., Woodford, N., Nordmann, P., Network, a.C.E., 2012, Rapid evolution and spread of carbapenemases among Enterobacteriaceae in Europe. *Clinical Microbiology and Infection* 18 (2012), 413-431.
- Carmo, L.P., Nielsen, L.R., da Costa, P.M., Alban, L., 2014, Exposure assessment of extended-spectrum beta-lactamases/AmpC beta-lactamases-producing *Escherichia coli* in meat in Denmark. *Infection Ecology and Epidemiology* 4.

- Chabok, A., Tärnberg, M., Smedh, K., Pålman, L., LE, N., Lindberg, C., Hanberger, H., 2010, Prevalence of fecal carriage of antibiotic-resistant bacteria in patients with acute surgical abdominal infections. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 45, 1203-1210.
- Chen, H., Shu, W., Chang, X., Chen, J.A., Guo, Y., Tan, Y., 2010, The profile of antibiotics resistance and integrons of extended-spectrum beta-lactamase producing thermotolerant coliforms isolated from the Yangtze River basin in Chongqing. *Environmental Pollution* 158, 2459-2464.
- Chouchani, C., Marrakchi, R., Henriques, I., Correia, A., 2013, Occurrence of IMP-8, IMP-10, and IMP-13 metallo-beta-lactamases located on class 1 integrons and other extended-spectrum beta-lactamases in bacterial isolates from Tunisian rivers. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 45, 95-103.
- D'Andrea, M.M., Literacka, E., Zioga, A., Giani, T., Baraniak, A., Fiett, J., Sadowy, E., Tassios, P.T., Rossolini, G.M., Gniadkowski, M., Miriagou, V., 2011, Evolution and spread of a multidrug-resistant *Proteus mirabilis* clone with chromosomal AmpC-type cephalosporinases in Europe. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 55, 2735-2742.
- DANMAP 2012. Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, food and humans in Denmark (Statens Serum Institute, National Veterinary Institute, Technical University of Denmark, National Food Institute).
- de Been, M., Scharringa, J., Du, Y., Hu, J., Liu, Z., Lei, Y., Cen, Z., Cohen Stuart, J.W., Fluit, A.C., Leverstein-van Hall, M.A., Bonten, M.J.M., Willems, R.J.L., van Schaik, W. 2013. Whole genome sequence-based epidemiological analysis of ESBL-producing *Escherichia coli*. In ECCMID Poster/abstract.
- Dhanji, H., Murphy, N.M., Akhigbe, C., Doumith, M., Hope, R., Livermore, D.M., Woodford, N., 2011, Isolation of fluoroquinolone-resistant O25b:H4-ST131 *Escherichia coli* with CTX-M-14 extended-spectrum beta-lactamase from UK river water. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 66, 512-516.
- Dierikx, C.M., van der Goot, J.A., Smith, H.E., Kant, A., Mevius, D.J., 2013, Presence of ESBL/AmpC-producing *Escherichia coli* in the broiler production pyramid: a descriptive study. *Public Library of Science One* 8, e79005.
- Doublet, B., Praud, K., Nguyen-Ho-Bao, T., Argudin, M.A., Bertrand, S., Butaye, P., Cloeckaert, A., 2014, Extended-spectrum beta-lactamase- and AmpC beta-lactamase-producing D-tartrate-positive *Salmonella enterica* serovar Paratyphi B from broilers and human patients in Belgium, 2008-10. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 69, 1257-1264.
- Dutil, L., Irwin, R., Finley, R., Ng, L.K., Avery, B., Boerlin, P., Bourgault, A.M., Cole, L., Daignault, D., Desruisseau, A., Demczuk, W., Hoang, L., Horsman, G.B., Ismail, J., Jamieson, F., Maki, A., Pacagnella, A., Pillai, D.R., 2010, Ceftiofur resistance in *Salmonella enterica* serovar Heidelberg from chicken meat and humans, Canada. *Emerging Infectious Diseases* 16, 48-54.
- EARS-Net 2012. Antimicrobial resistance surveillance in Europe. Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network. <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/antimicrobial-resistance-surveillance-europe-2012.pdf>.

- ECDC, 2007, Annual epidemiological report on communicable diseases in Europe 2005. http://ecdc.europa.eu/pdf/ECDC_epi_report_2007.pdf.
- EFSA, 2009, Scientific opinion of the panel on biological hazards on a request from the European Commission on assessment of the public health significance of meticillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in animals and foods. The EFSA Journal 2009, 993:1-73.
- EFSA, 2011a, Scientific opinion on the public health risks of bacterial strains producing extended-spectrum betalactamases and/or AmpC betalactamases in food and food-producing animals. EFSA Panel on Biological hazards. The EFSA Journal 9, 2322.
- EFSA, 2011b, The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in the European Union in 2009. EFSA and ECDC. The EFSA Journal 9, 2154.
- EFSA, 2013a, Evaluation of molecular typing methods for major food-borne pathogens (Part 1). The EFSA Journal 11(12):3502.
- EFSA, 2013b, Scientific opinion on carbapenem resistance in food animal ecosystems. The EFSA Journal.
- EFSA, ECDC, 2014, The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2012. . The EFSA Journal 12(2):3547.
- Egea, P., Lopez-Cerero, L., Navarro, M.D., Rodriguez-Bano, J., Pascual, A., 2011, Assessment of the presence of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in eggshells and ready-to-eat products. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases 30, 1045-1047.
- Egea, P., Lopez-Cerero, L., Torres, E., Gomez-Sanchez Mdel, C., Serrano, L., Navarro Sanchez-Ortiz, M.D., Rodriguez-Bano, J., Pascual, A., 2012, Increased raw poultry meat colonization by extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in the south of Spain. International Journal of Food Microbiology 159, 69-73.
- Egervärn, M., Englund, S., Börjesson, S., Lindblad, M. 2011. Kartläggning av ESBL-bildande *E. coli* och salmonella på kött på den svenska marknaden. Livsmedelsverket, SVA och Smittskyddsinstitutet. www.slv.se.
- Egervärn, M., Englund, S., Börjesson, S., Lindblad, M. 2013. Antibiotikaresistens- ESBL-bildande *E. coli* i svenskt råvatten - en pilotstudie. In Livsmedelsverket och Statens veterinärmedicinska anstalt.
- Egervärn, M., Flink, C. 2014. Förekomst av shigatoxinproducerande *E. coli* (STEC) på nötkött och bladgrönsaker på svenska marknaden. In Livsmedelsverkets rapportserie, under publicering.
- EMA, 2014. European Medicines Agency, European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption, 2014. 'Sales of veterinary antimicrobial agents in 26 EU/EEA countries in 2012'. (EMA/333921/2014).
- Enright, M.C., Spratt, B.G., 1999, Multilocus sequence typing. Trends in Microbiology 7, 482-487.
- Folkhälsomyndigheten, 2012, ESBL-producerande tarmbakterier-- Kunskapsunderlag med förslag till handläggning för att begränsa spridningen av Enterobacteriaceae med ESBL (www.folkhalsomyndigheten.se).

- Galvin, S., Boyle, F., Hickey, P., Vellinga, A., Morris, D., Cormican, M., 2010, Enumeration and characterization of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* bacteria in effluent from municipal, hospital, and secondary treatment facility sources. *Applied and Environmental Microbiology* 76, 4772-4779.
- Giske, C.G., Monnet, D.L., Cars, O., Carmeli, Y., 2008, Clinical and economic impact of common multidrug-resistant gram-negative bacilli. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 52, 813-821.
- Giske, C.G., Sundsfjord, A.S., Kahlmeter, G., Woodford, N., Nordmann, P., Paterson, D.L., Canton, R., Walsh, T.R., 2009, Redefining extended-spectrum beta-lactamases: balancing science and clinical need. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 63, 1-4.
- Guenther, S., Ewers, C., Wieler, L.H., 2011, Extended-Spectrum Beta-Lactamases Producing *E. coli* in Wildlife, yet Another Form of Environmental Pollution? *Frontiers in Microbiology* 2, 246.
- Hartman, A., Locatellia, A., Amoureux, L., Deppret, G., Jolivet, C., Gueneau, E., Neuwirth, C., 2012, Occurrence of CTX-M producing *Escherichia coli* in soils, cattle, and farm environment in France (Burgundyregion). *Front Microbiol* doi: 10.3389/fmicb.2012.00083.
- Hassan, S.A., Altalhi, A.D., Gherbawy, Y.A., El-Deeb, B.A., 2011, Bacterial load of fresh vegetables and their resistance to the currently used antibiotics in Saudi Arabia. *Foodborne Pathogens and Diseases* 8, 1011-1018.
- Helldal, L., Karami, N., Floren, K., Welinder-Olsson, C., Moore, E.R., Ahren, C., 2013, Shift of CTX-M genotypes has determined the increased prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in south-western Sweden. *Clinical Microbiology and Infections* 19, E87-90.
- Hernandez, J., Johansson, A., Stedt, J., Bengtsson, S., Porczak, A., Granholm, S., Gonzalez-Acuna, D., Olsen, B., Bonnedahl, J., Drobni, M., 2013, Characterization and comparison of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) resistance genotypes and population structure of *Escherichia coli* isolated from Franklin's gulls (*Leucophaeus pipixcan*) and humans in Chile. *Public Library of Science One* 8, e76150.
- Hernandez, J., Stedt, J., Bonnedahl, J., Molin, Y., Drobni, M., Calisto-Ulloa, N., Gomez-Fuentes, C., Astorga-Espana, M.S., Gonzalez-Acuna, D., Waldenstrom, J., Blomqvist, M., Olsen, B., 2012, Human-associated extended-spectrum beta-lactamase in the Antarctic. *Applied and Environmental Microbiology* 78, 2056-2058.
- Hu, Y.Y., Cai, J.C., Zhou, H.W., Chi, D., Zhang, X.F., Chen, W.L., Zhang, R., Chen, G.X., 2013, Molecular typing of CTX-M-producing *Escherichia coli* isolates from environmental water, swine feces, specimens from healthy humans, and human patients. *Applied and Environmental Microbiology* 79, 5988-5996.
- Jass, J., Olsson, P.-E., 2013, Antibiotic resistance in fecal indicator bacteria. Muntlig presentation vid Mikrobiologiskt vårmöte i Örebro 2013-04-10
- Kim, J., Kang, H.Y., Lee, Y., 2008, The identification of CTX-M-14, TEM-52, and CMY-1 enzymes in *Escherichia coli* isolated from the Han River in Korea. *Journal of Microbiology* 46, 478-481.

- Kluytmans, J.A., Overdevest, I.T., Willemsen, I., Kluytmans-van den Bergh, M.F., van der Zwaluw, K., Heck, M., Rijnsburger, M., Vandenbroucke-Grauls, C.M., Savelkoul, P.H., Johnston, B.D., Gordon, D., Johnson, J.R., 2013, Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* from retail chicken meat and humans: comparison of strains, plasmids, resistance genes, and virulence factors. *Clinical Infectious Diseases* 56, 478-487.
- Kola, A., Kohler, C., Pfeifer, Y., Schwab, F., Kuhn, K., Schulz, K., Balau, V., Breitbach, K., Bast, A., Witte, W., Gastmeier, P., Steinmetz, I., 2012, High prevalence of extended-spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in organic and conventional retail chicken meat, Germany. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 67, 2631-2634.
- KOM 2011. European Commission. Action plan against the rising threats from antimicrobial resistance. COM:748. Available at: <http://ec.europa.eu/dgs/health_consumer/docs/communication_amr_2011_748_en.pdf>.
- Koniger, D., Gastmeier, P., Kola, A., Schwab, F., Meyer, E., 2014, Vegetarians are not less colonized with extended-spectrum-beta-lactamase-producing bacteria than meat eaters. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 69, 281-282.
- Korzeniewska, E., Korzeniewska, A., Harnisz, M., 2013, Antibiotic resistant *Escherichia coli* in hospital and municipal sewage and their emission to the environment. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 91, 96-102.
- Kuhn, D., Coates, C., Daniel, K., Chen, D., Bhuiyan, M., Kazi, A., Turos, E., and Ping Dou, Q., 2004, Beta-lactams and their potential use as novel anticancer chemotherapeutic chemotherapeutic drugs *Frontiers in Bioscience* 9, 2605-2617.
- Kwak, Y.-K., Colque, P., Byfors, S., Giske, C.G., Möllby, R., Kühn, I., accepted 2014, Surveillance of antimicrobial resistance among *Escherichia coli* in wastewater in Stockholm during one year - does it reflect the resistance trends in the society?
- Leistner, R., Meyer, E., Gastmeier, P., Pfeifer, Y., Eller, C., Dem, P., Schwab, F., 2013, Risk factors associated with the community-acquired colonization of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) positive *Escherichia coli*. an exploratory case-control study. *PLoS One* 8, e74323.
- Leverstein-van Hall, M.A., Dierikx, C.M., Cohen Stuart, J., Voets, G.M., van den Munckhof, M.P., van Essen-Zandbergen, A., Platteel, T., Fluit, A.C., van de Sande-Bruinsma, N., Scharinga, J., Bonten, M.J., Mevius, D.J., 2011, Dutch patients, retail chicken meat and poultry share the same ESBL genes, plasmids and strains. *Clinical Microbiology and Infections* 17, 873-880.
- Mataseje, L.F., Neumann, N., Crago, B., Baudry, P., Zhanel, G.G., Louie, M., Mulvey, M.R., 2009, Characterization of cefoxitin-resistant *Escherichia coli* isolates from recreational beaches and private drinking water in Canada between 2004 and 2006. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 53, 3126-3130.
- Naseer, U., Sundsfjord, A., 2011, The CTX-M conundrum: dissemination of plasmids and *Escherichia coli* clones. *Microbial Drug Resistance* 17, 83-97.

- Nilsson, O., Borjesson, S., Landen, A., Bengtsson, B., 2014, Vertical transmission of *Escherichia coli* carrying plasmid-mediated AmpC (pAmpC) through the broiler production pyramid. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 69, 1497-1500.
- Overdeest, I., Willemsen, I., Rijnsburger, M., Eustace, A., Xu, L., Hawkey, P., Heck, M., Savelkoul, P., Vandenbroucke-Grauls, C., van der Zwaluw, K., Huijsdens, X., Kluytmans, J., 2011, Extended-spectrum beta-lactamase genes of *Escherichia coli* in chicken meat and humans, The Netherlands. *Emerging Infectious Diseases* 17, 1216-1222.
- Reinthaler, F.F., Feierl, G., Galler, H., Haas, D., Leitner, E., Mascher, F., Melkes, A., Posch, J., Winter, I., Zarfel, G., Marth, E., 2010, ESBL-producing *E. coli* in Austrian sewage sludge. *Water Research* 44, 1981-1985.
- Reuland, E.A., Al Naiemi, N., Raadsen, S.A., Savelkoul, P.H., Kluytmans, J.A., Vandenbroucke-Grauls, C.M., 2014, Prevalence of ESBL-producing Enterobacteriaceae in raw vegetables. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*.
- Schwaber, M.J., Carmeli, Y., 2007, Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum beta-lactamase production in *Enterobacteriaceae* bacteraemia: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 60, 913-920.
- Seiffert, S.N., Hilty, M., Perreten, V., Endimiani, A., 2013, Extended-spectrum cephalosporin-resistant Gram-negative organisms in livestock: an emerging problem for human health? *Drug Resistance Updates* 16, 22-45.
- Skockova, A., Karpiskova, R., Kolackova, I., Cupakova, S., 2013, Characteristics of *Escherichia coli* from raw vegetables at a retail market in the Czech Republic. *International Journal of Food Microbiology* 167, 196-201.
- Soraas, A., Sundsfjord, A., Sandven, I., Brunborg, C., Jenum, P.A., 2013, Risk factors for community-acquired urinary tract infections caused by ESBL-producing enterobacteriaceae--a case-control study in a low prevalence country. *Public Library of Science One* 8, e69581.
- Strömdahl, H., Tham, J., Melander, E., Walder, M., Edquist, P., Odenholt, I., 2011, Prevalence of faecal ESBL carriage in the community and in a hospital setting in a county of Southern Sweden. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 30, 1159-1162.
- SVARM, 2010, Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring (SVARM). The National Veterinary Institute (SVA), Uppsala, Sweden (<http://www.sva.se>).
- SVARM, 2011, Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring (SVARM). Statens veterinärmedicinska anstalt (SVA), Uppsala, Sverige (<http://www.sva.se>).
- Swedres/Svarm 2012. Swedish Antibiotic Utilisation and Resistance in Human Medicine Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring. Folkhälsomyndigheten, Solna, Sverige (<http://www.folkhalsomyndigheten.se>), Statens veterinärmedicinska anstalt (SVA), Uppsala, Sverige (<http://www.sva.se>).

- Swedres/Svarm, 2013, Use of antimicrobials and occurrence of antimicrobial resistance in Sweden. Folkhälsomyndigheten, Solna, Sverige (<http://www.folkhalsomyndigheten.se>), Statens veterinärmedicinska anstalt (SVA), Uppsala, Sverige (<http://www.sva.se>).
- Tacao, M., Correia, A., Henriques, I., 2012, Resistance to broad-spectrum antibiotics in aquatic systems: anthropogenic activities modulate the dissemination of bla(CTX-M)-like genes. *Applied and Environmental Microbiology* 78, 4134-4140.
- Tängden, T., Cars, O., Melhus, A., Löwdin, E., 2010, Foreign travel is a major risk factor for colonization with *Escherichia coli* producing CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamases: a prospective study with Swedish volunteers. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 54, 3564-3658.
- Wallensten, A., Hernandez, J., Ardiles, K., Gonzalez-Acuna, D., Drobni, M., Olsen, B., 2011, Extended spectrum beta-lactamases detected in *Escherichia coli* from gulls in Stockholm, Sweden. *Infection Ecology and Epidemiology* 1.
- Walsh, F., Duffy, B., 2013, The culturable soil antibiotic resistome: a community of multi-drug resistant bacteria. *Public Library of Science One* 8, e65567.
- van de Sande-Bruinsma, N., Grundmann, H., Verloo, D., Tiemersma, E., Monen, J., Goossens, H., Ferech, M., 2008, Antimicrobial drug use and resistance in Europe. *Emerging Infectious Diseases* 14, 1722-1730.
- Wellington, E.M., Boxall, A.B., Cross, P., Feil, E.J., Gaze, W.H., Hawkey, P.M., Johnson-Rollings, A.S., Jones, D.L., Lee, N.M., Otten, W., Thomas, C.M., Williams, A.P., 2013, The role of the natural environment in the emergence of antibiotic resistance in gram-negative bacteria. *Lancet Infectious Disease* 13, 155-165.
- WHO, 2007, Antimicrobials for human medicine: Categorization for the development of risk management strategies to contain antimicrobial resistance due to non-human antimicrobial use.
http://www.who.int/foodborne_disease/resistance/antimicrobials_human.pdf.
- WHO 2014. Antimicrobial resistance: Global report on surveillance.
- Woerther, P.L., Burdet, C., Chachaty, E., Andremont, A., 2013, Trends in human fecal carriage of extended-spectrum beta-lactamases in the community: toward the globalization of CTX-M. *Clinical Microbiology Reviews* 26, 744-758.
- Woodford, N., Wareham, D.W., Guerra, B., Teale, C., 2014, Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and non-Enterobacteriaceae from animals and the environment: an emerging public health risk of our own making? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 69 (2014), 287-291.
- Zurfluh, K., Hachler, H., Nuesch-Inderbinen, M., Stephan, R., 2013, Characteristics of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)- and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae isolated from rivers and lakes in Switzerland. *Applied and Environmental Microbiology* 79, 3021-3026.

Enkät för bärarskapsstudien

Enkät

Enkäten kan också besvaras på webben på, länk hittar du på: www.smi.se/esblstudie. Du ombeds där fylla i ett lösenord, det är esblstudie. Du ombeds även fylla i enkätID, det är den femsiffriga koden som finns längst ner på den här sidan.

Markera med kryss, använd svart eller blå kulspetspenna. Om du kryssar fel – fyll rutan och skriv att du markerat fel därefter markerar du det rätta svaret med kryss. Vik inte enkäten när du stoppar den i svarskuvertet.

1. Personnummer (ÅÅMMDD – nnnn):

2. Har du varit utomlands det senaste halvåret? Om inte, kryssa nej och hoppa till fråga 4

Ja Nej → till fråga 4

3. Om ja på fråga 2, var reste du då? Om du besökt flera länder ange samtliga.

Norden Grekland Italien Spanien Turkiet

Övriga Europa

Thailand Indien Irak Övriga Asien

Oceanien

Nordamerika Sydamerika

Egypten Marocko Övriga Afrika

4. Har du fått antibiotikabehandling det senaste halvåret?

Ja Nej Kommer inte ihåg

5. Har du sökt vård i Sverige eller utomlands det senaste halvåret? Om inte, kryssa nej och hoppa till fråga 8.

Ja Nej → till fråga 8 Kommer inte ihåg → till fråga 8

6. Om ja på fråga 5, vilken typ av vård sökte du (om du sökt vård flera gånger, kryssa alla alternativ du sökt vård på)?

Vårdcentral Mödravård Akutmottagning Specialistsjukvård*

Tandläkare Inlagd på sjukhus över minst en natt Annat

*T.ex. Öron/Näsa/Hals mottagning, Röntgen

7. Om ja på fråga 6, i vilket land/region sökte du vård? Om du sökt vård i flera länder ange samtliga.

- Sverige Grekland Italien Spanien Turkiet
- Övriga Europa
- Thailand Indien Irak Övriga Asien
- Oceanien
- Nordamerika Sydamerika
- Egypten Marocko Övriga Afrika

8. Har du husdjur eller daglig kontakt med djur? Om inte, kryssa nej och hoppa till fråga 10.

- Ja Nej → till fråga 10

9. Om ja på fråga 8, vilket/vilka djur?

- Hund Katt Kanin Gnagare Fågel Reptil Häst Ko
- Gris Får Kyckling Annat

10. Matvanor

Uppskatta hur ofta du äter varje livsmedel och markera med kryss.

	Varje dag	Varje vecka	1 ggr/månad	Aldrig
Bladgrönt*	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Nötkött	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Fläskkött	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kyckling	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Annat kött/fågel**	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Fisk	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

*Sallader av olika slag som t.ex. isbergssallad, romansallad, ruccola, spenat och färska kryddor.

**T.ex. vilt, lamm, kalkon.

Tack för din medverkan!

Samtycke

Samtycke kan även lämnas på webben om du väljer att svara på enkäten digitalt, se www.smi.se/esblstudie för länk till enkät.

Nedan ger du ditt samtycke till att delta i studien där vi vill kartlägga förekomsten av antibiotikaresistenta tarmbakterier hos friska individer. Läs igenom detta noggrant och ge ditt medgivande genom att skriva under med din namnteckning längst ned och skicka sedan in blanketten tillsammans med dina svar på enkäten.

Studien har granskats av den lokala etikprövningsnämnden i Stockholm och fått godkänt (Dnr 2012/1204-31/4) och behandling av dina personuppgifter sker enligt personuppgiftslagen (PUL 1998:204).

Medgivande

- Jag deltar i denna studie helt frivilligt och jag har tagit del av informationen kring studien och är medveten om hur den kommer att gå till och den tid den tar i anspråk.
- Jag har fått tillfälle att få mina frågor angående studien besvarade innan den påbörjas och vet vem jag ska vända mig till med frågor.
- Jag är medveten om att jag när som helst under studiens gång kan avbryta mitt deltagande utan att behöva förklara varför.
- Jag ger mitt medgivande till Smittskyddsinstitutet att lagra och bearbeta den information som insamlas under studien.
- Jag ger detta medgivande förutsatt att inga andra än de forskare som är knutna till studien kommer att ta del av det insamlade materialet.
- Behandling av dina personuppgifter sker enligt personuppgiftslagen (PUL 1998:204). Du kan skriftligen begära att få reda på vilka uppgifter som finns registrerade om dig, varifrån uppgifterna har hämtats och till vilka kategorier av mottagare som uppgifter har lämnats ut. Ett sådant utdrag har du rätt att få en gång per år utan kostnad. Om det står något felaktigt om dig skall den uppgiften rättas.

Ort _____ Datum _____

Namnteckning

Namnförtydligande

Analyser

Isolering av ESBL-bildande *E. coli*

Livsmedel

Inkomna livsmedelsprov hanterades enligt Livsmedelsverkets instruktion för provhantering på Mikrobiologiska enheten, MI-i052. Detektion och isolering av ESBL-bildande *E. coli* i livsmedelsproven gjordes enligt Livsmedelsverkets instruktion MI-m016. Nedan följer en översiktlig beskrivning av analysmetoden, en så kallad selektiv odlingsmetod.

Totalt 25 g av provet finfördelades i 225 ml buffrat peptonvatten, varefter 100 ml av homogenatet blandades med 1 mg/l cefotaxim och anrikades vid 37°C i 18-24 timmar. Cirka 10 µl av anrikningsbuljongen spreds på CHROMagar™ med 1 mg/l cefotaxim (CHROMagar™ CTX) och CHROMagar™ ESBL. Agarplattorna inkuberades vid 37°C i 18-24 timmar. Cefalosporin-resistenta *E. coli* växer som rosa kolonier på dessa plattor, ESBL_A-bildande *E. coli* växer på båda agartyperna och ESBL_M-bildande *E. coli* enbart på CHROMagar™ CTX. I första hand valdes en rosa koloni från plattan med CHROMagar™ CTX och om den inte innehöll några kolonier valdes en rosa koloni från plattan med CHROMagar™ ESBL. Artbestämning av renstrukna kolonier gjordes med API20E och ESBL-produktion hos dessa konfirmerades med Etest®ESBL. Misstänkta ESBL_M-bildande *E. coli* testades vid SVA med Etest®AmpC för att påvisa enzymet AmpC. Alla verifierade ESBL-bildande *E. coli*-isolat testades för karbapenemasproduktion med Etest®Meropenem.

Friska människor, avloppsvatten och trutspillning

För prover från friska människor ströks en del av avföringsprovet ut på CHROMagar™ Orientation med tillsats av 3 mg/l cefpodoxim och inkuberades vid 37°C i 18-24 timmar för att identifiera potentiella ESBL-bildande *E. coli*. Plattorna undersöktes för misstänkta *E. coli* (vita eller rosa kolonier). I de fall misstänkta kolonier med olika utseenden observerades analyserades samtliga vidare för artbestämning och verifiering av ESBL.

För prover från avloppsvatten spreds varje prov på CHROMagar™ Orientation med 3 mg/l cefpodoxim och på CHROMagar™ Orientation utan antibiotika. Den icke-selektiva isoleringen samt provtagning av det utgående vattnet möjliggjorde en beräkning på hur många ESBL-bildande *E. coli* som kommer till reningsverket varje dygn samt en beräkning av hur mycket ESBL-bildande *E. coli* som också går ut från reningsverket. Båda agarplattorna inkuberades vid 44°C i 18-24 timmar. I fallet med plattor utan antibiotika späddes avloppsvattnet 10-20 gånger innan spridning på plattan och från plattan analyserades 80 misstänkta *E. coli* för resistens mot cefpodoxim (3 mg/l).

Prov från trutspillning inokulerades i BHI-medium med 16 mg/l vankomycin för att hämma växt av grampositiva bakterier och odlades vid 37°C i 18-24 timmar. Därefter inokulerades proverna på chromID™ ESBL- plattor och inkuberades 18-24 timmar vid 37°C. I de fall vita och eller rosa kolonier med olika utseenden observerades, analyserades samtliga vidare för artbestämning och verifiering av ESBL.

Misstänkta ESBL-bildande *E. coli* från friska människor, trutspillning och avloppsvatten artbestämdes med hjälp av Maldi-ToF. ESBL-bildande *E. coli* verifierades fenotypiskt för ESBL_A respektive ESBL_M med dubbeldisk-diffusion med cefotaxim och ceftazidim +/- klavulansyra samt cefotaxim och ceftazidim +/- kloxacillin. Alla ESBL-bildande isolat testades för karbapenemasproduktion med diskdiffusion och eller E-test med meropenem, imipenem, ertapenem och temocillin (CLSI, 2011).

Sjuka människor

Kliniska laboratorier vid deltagande svenska sjukhus skickade enligt överenskommelse in cefalosporin-resistenta misstänkta *E. coli*-isolat till Folkhälsomyndigheten för vidare karaktärisering. Samtliga *E. coli*-isolat kom från blodprov från sjuka människor. Innan isolaten karaktäriserades enligt nedanstående beskrivning, odlades de på blodagar för verifiering av ESBL-resistens samt bestämning av arten *E. coli*. Verifiering och artbestämning av isolat från sjuka människor gjordes på samma sätt som för isolaten från friska människor, trutspillning och avloppsvatten.

Karaktärisering av ESBL-bildande *E. coli*

Karaktärisering av ESBL-bildande *E. coli*, tillhörande gener och plasmider utfördes på SVA och Folkhälsomyndigheten enligt rekommendationer från (EFSA, 2011a). Resistens mot 14 antibiotika undersöktes med en mikrodilutionsmetod enligt CLSIs standard (CLSI, 2013) med VetMIC GN-mo paneler (SVA, Uppsala), för bestämning av lägsta hämmande antibiotikakonzentration (MIC; mg/l). Epidemiologiska brytpunkter enligt EUCAST (2014) användes för att klassificera isolaten som resistenta eller känsliga. Ett isolat definierades som multiresistent om det var resistent mot två eller fler antibiotikaklasser utöver ESBL (resistens mot betalaktam-antibiotika).

För isolat från livsmedelsproducerande djur och livsmedel detekterades gengrupperna *ctx-m*, *shv*, *tem*, *oxa* och *cmy* med multiplex-PCR (Costa et al., 2006; Fang et al., 2008; Perez-Perez and Hanson, 2002; Woodford et al., 2006) på SVA. För isolat från människor, trutar och avloppsvatten gjordes CheckPointsMicroarray på Folkhälsomyndigheten för detektion av gengrupperna *ctx-m* (grupp 1, 2, 8, 9 och 25), *tem* (vildtyp och ESBL), *shv* (vildtyp och ESBL), *dha*, *cmy*, *fox*, *act/mir*, och Carba-generna *ndm* och *kpc*. De specifika genvarianterna bestämdes med DNA-sekvensering (Brolund et al., 2013; Börjesson et al., 2013a; Hasman et al., 2005; McGettigan et al., 2009; Ryoo et al., 2005).

Släktskap mellan bakterieisolaten undersöktes med genotypnings-metoden multilocus sequence typing (MLST) för att få fram specifika så kallade sekvenstyper, (ST) (<http://mlst.ucc.ie>) (Faktaruta 3). Släktskap mellan olika ESBL-plasmider undersöktes med PCR-baserad replikontypning, en metod som delar in plasmider i inkompatibilitetsgrupper (Inc), även kallad plasmid-typ (Carattoli et al., 2005).

Statistisk analys

Deskriptiv statistik användes vid analys av data. Andelen positiva isolat för varje sekvenstyp (ST), ESBL-gen och plasmidtyp beräknades inom varje provkategori (införda/importerade livsmedel, svenska livsmedel, friska djur, friska människor, sjuka människor samt miljö och avloppsvatten). Ett 95 procentigt konfidensintervall

för andelarna beräknades med Wilson score interval som ger konfidensintervallet de egenskaper som en proportion har (kan bara anta ett värde mellan 0 och 100 procent) (Wallis, 2013). Ytterligare analyser utfördes på sammanslagna data där profiler skapades utifrån ST-typ, ESBL-gen och replikontyp vilket påminner om klusteranalys där prover korrelerar mer inom profil än mellan profiler. Samma typ av sammanslagning till profiler genomfördes för kombinationer av ESBL-gen och replikontyp, för att se om en viss gen var vanligare på en viss plasmid/replikontyp, samt för kombinationer av ST-typ, ESBL-gen och replikontyp för att kunna avgöra om en viss typ av bakterie (ST) oftare bar på en viss typ av plasmid/replikon och gen. Sett över provkategorier skulle det kunna ge ett mått på överlapp för de olika kombinationerna det vill säga visa på eventuell spridning av gener, plasmider och bakterietyper.

Resistensdata analyserades med binär logistisk regression för att kunna jämföra provkategorier mot varandra med avseende även på multiresistens. En sammanställning av andelen multiresistenta isolat för varje provkategori utfördes också.

Risikfaktorer för ESBL-bärarskap hos friska frivilliga personer räknades ut med logistisk regressionsanalys, för att få fram sannolikheten för att vara bärare utifrån de kriterier som återfinns i enkäten, se bilaga 1.

Referenser

- Brolund, A., Franzen, O., Melefors, O., Tegmark-Wisell, K., Sandegren, L., 2013, Plasmidome-analysis of ESBL-producing *Escherichia coli* using conventional typing and high-throughput sequencing. *Public Library of Science One* 8, e65793.
- Börjesson, S., Egervärn, M., Lindblad, M., Englund, S., 2013a, Frequent occurrence of extended-spectrum beta-lactamase- and transferable ampC beta-lactamase-producing *Escherichia coli* on domestic chicken meat in Sweden. *Applied and Environmental Microbiology* 79, 2463-2466.
- Carattoli, A., Bertini, A., Villa, L., Falbo, V., Hopkins, K.L., Threlfall, E.J., 2005, Identification of plasmids by PCR-based replicon typing. *Journal of Microbiological Methods* 63, 219-228.
- CLSI, 2011, Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-first informational supplement. Document M100-S21. Wayne, PA, U.S.A. .
- CLSI 2013. Clinical Laboratories Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals.
- Costa, D., Poeta, P., Saenz, Y., Vinue, L., Rojo-Bezares, B., Jouini, A., Zarazaga, M., Rodrigues, J., Torres, C., 2006, Detection of *Escherichia coli* harbouring extended-spectrum beta-lactamases of the CTX-M, TEM and SHV classes in faecal samples of wild animals in Portugal. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 58, 1311-1312.
- EFSA, 2011a, Scientific opinion on the public health risks of bacterial strains producing extended-spectrum betalactamases and/or AmpC betalactamases in food and food-producing animals. EFSA Panel on Biological hazards. *The EFSA Journal* 9, 2322.
- EUCAST 2014. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Version 4.0. <http://www.eucast.org>.
- Fang, H., Ataker, F., Hedin, G., Dornbusch, K., 2008, Molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamases among *Escherichia coli* isolates collected in a Swedish hospital and its associated health care facilities from 2001 to 2006. *Journal of Clinical Microbiology* 46, 707-712.
- Hasman, H., Mevius, D., Veldman, K., Olesen, I., Aarestrup, F.M., 2005, Beta-lactamases among extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-resistant *Salmonella* from poultry, poultry products and human patients in The Netherlands. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 56, 115-121.
- McGettigan, S.E., Hu, B., Andreacchio, K., Nachamkin, I., Edelstein, P.H., 2009, Prevalence of CTX-M beta-lactamases in Philadelphia, Pennsylvania. *Journal of Clinical Microbiology* 47, 2970-2974.
- Perez-Perez, F.J., Hanson, N.D., 2002, Detection of plasmid-mediated AmpC beta-lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. *Journal of Clinical Microbiology* 40, 2153-2162.
- Ryoo, N.H., Kim, E.C., Hong, S.G., Park, Y.J., Lee, K., Bae, I.K., Song, E.H., Jeong, S.H., 2005, Dissemination of SHV-12 and CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamases among clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* and emergence of GES-3 in Korea. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 56, 698-702.
- Wallis, S., 2013, Binomial confidence intervals and contingency tests: Mathematical fundamentals and the evaluation of alternative methods. *Journal of Quantitative Linguistics* 20(3):178–208.
- Woodford, N., Fagan, E.J., Ellington, M.J., 2006, Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding CTX-M extended-spectrum (beta)-lactamases. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 57, 154-155.

Livsmedel som ingick i ESBL-kartläggningen under 2012-2013

Typ, antal och ursprung för fisk- och skaldjursprov samt prov från bladgrönsaker som ingick i ESBL-kartläggningen under 2012-2013. För sammanställning av de köttprov som har undersökts hänvisas till Börjesson et al. (manuskript) och Egervärn et al. (2011).

Provtyp	Antal analyserade prov	Ursprung (antal prov)	Typ av produkt (antal prov)
Fisk och skaldjur	29	Importerat ^a (29)	Pangasius (13) Musslor (6) Räkor (5) Skaldjursmix (3) Tilapia (1) Bläckfisk (1)
Bladgrönsaker	630	Sverige (147) Infört ^c (365) Importerat ^d (10) Blandat (108) ^e	Sallatsmix (138) ^b Spemat (92) Rucola (90) Kålväxter (70) Romansallat (55) Isbergssallat (42) Mâchesallat (29) Huvudsallat (27) Mangold (19) Övriga sallatstyper (68)

^aVietnam (13), Nya Zeeland (3), Kina (3), Chile (2), Australien (1), Indien (1), Bangladesh (1), USA (1), Indonesien (1), okänt ursprung (4)

^bInnehöll två eller flera salladstyper

^cCypern (1), Danmark (17), Frankrike (22), Italien (141), Nederländerna (42), Norge (1), Polen (3), Portugal (2), Spanien (93), Tyskland (37), Ungern (6)

^dEgypten (2), Laos (1), Thailand (1), Turkiet (3), Vietnam (3)

^eSalladsmix med ingredienser från minst två olika EU-länder, inklusive Sverige

Referenser:

Börjesson, S., Bengtsson, B., Finn, M., Englund, S., manuskript, Characterization of transferable genes encoding extended-spectrum cephalosporinases in *Escherichia coli* isolated from Danish and Swedish chicken meat.

Egervärn, M., Englund, S., Börjesson, S., Lindblad, M. 2011. Kartläggning av ESBL-bildande *E. coli* och salmonella på kött på den svenska marknaden. Livsmedelsverket, SVA och Smittskyddsinstitutet. www.slv.se.