



Forekomst af antibiotikaresistens i bakterieisolater fra danske mink

Chriél, Mariann; Lassen, Desiree Corvera Kløve; Larsen, Gitte; Jensen, Vibeke Frøkjær; Pedersen, Karl

Published in:
Faglig årsberetning 2016 : København Fur

Publication date:
2017

Document Version
Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link back to DTU Orbit](#)

Citation (APA):
Chriél, M., Lassen, D. C. K., Larsen, G., Jensen, V. F., & Pedersen, K. (2017). Forekomst af antibiotikaresistens i bakterieisolater fra danske mink. In *Faglig årsberetning 2016 : København Fur* (pp. 153-158). København Fur.

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Forekomst af antibiotikaresistens i bakterieisolater fra danske mink

Mariann Chriél, Desirée C.K. Lassen, Gitte Larsen, Vibeke F. Jensen, Karl Pedersen
National Veterinary Institute, Technical University of Denmark, Denmark

Sammendrag

Behandling af bakterielle infektioner hos mink kræver viden om resistensmønsteret. Denne undersøgelse rapporterer forekomst af antibiotikaresistens i de sygdomsfremkaldende bakterier, der er isoleret fra danske mink i perioden 2014-2015. I alt 213 *Escherichia coli* isolater blev testet; 109 hæmolytiske og 104 ikke-hæmolytiske. Endvidere 35 *Pseudomonas aeruginosa*, 19 *Streptococcus canis*, 15 *Streptococcus dysgalactia*, 38 *Staphylococcus delphini*, 4 *Staphylococcus aureus*, og 8 *Staphylococcus schleiferi* blev inkluderet i denne undersøgelse. *E. coli* resistens var hyppigere i hæmolytiske isolater end i ikke-hæmolytiske. Alle *P. aeruginosa*-isolater var følsomme over for apramycin, ciprofloxacin, colistin og gentamicin, mens de fleste isolater blev fundet resistente over for alle andre antimikrobielle stoffer. For *S. delphini* var den højeste forekomst af resistens for tetracyclin (52,5%), mens resistens for alle andre antibiotika var mindre end 5 %. Ét ud af fire *S. aureus* var MRSA. Alle streptokokker var følsomme over for penicillin.

Chriél, M., Lassen, D.C.K., Larsen, G., Jensen, V.F. & Pedersen, K. 2017. Forekomst af antibiotikaresistens i bakterieisolater fra danske mink. Faglig Årsberetning 2016, 153-158. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Abstract

Treatments of bacterial infections in mink require knowledge of the causative agents and their antimicrobial susceptibility patterns. This study report the patterns of antimicrobial resistance among pathogenic bacteria from Danish mink isolated from diagnostic submissions in 2014-2015. A total number of 213 *Escherichia coli* isolates was tested; 109 haemolytic and 104 non-haemolytic. Furthermore, 35 *Pseudomonas aeruginosa*, 19 *Streptococcus canis*, 15 *Streptococcus dysgalactia*, 38 *Staphylococcus delphini*, 4 *Staphylococcus aureus*, and 8 *Staphylococcus schleiferi* were included in this study. Among *E. coli*, resistance was more frequent in the haemolytic isolates than the non-haemolytic. All *P. aeruginosa* isolates were sensitive to apramycin, ciprofloxacin, colistin and gentamicin, whereas most isolates were found resistant to all others antimicrobials. Among *S. delphini*, far the highest frequency of resistance was found for tetracycline (52.5%), while resistance levels to all other antimicrobials were less than 5%. One of the four *S. aureus* was MRSA. All streptococci isolates were sensitive to penicillin.

Chriél, M., Lassen, D.C.K., Larsen, G., Jensen, V.F. & Pedersen, K. 2017. Antimicrobial resistance among bacteria from Danish mink. Annual Report 2016, 153-158. Copenhagen Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

Keywords: Antimicrobial resistance, mink, *Staphylococcus delphini*, *Streptococcus canis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*

Indledning

Antibiotika anvendes i minkproduktionen til behandling af bakterielle infektioner, men brugen af antimikrobielle lægemidler kan føre til selektion for resistens (Aarestrup *et al.*, 2001; Garcia-Miguera *et al.*, 2014), hvorved behandlingen i nogle tilfælde ikke vil have nogen virkning (Chriél *et al.*, 2012). Forskellige bakteriearter forårsager en lang række infektions-sygdomme. Blandt de vigtigste hos mink er

- *Escherichia coli* (enteritis, lungebetændelse, blodforgiftning),

- *Streptococcus canis* og *Streptococcus dysgalactiae* (lungeinfektioner, sårinfektioner, mastitis, og andre),
- forskellige koagulase positive stafylokokker (*Staphylococcus delphini*, *Staphylococcus aureus* og *Staphylococcus schleiferi*) (sårinfektioner, dermatitis, pleuritis, lungeinfektioner, mastitis, og andre)
- *Pseudomonas aeruginosa* (smitsom lungebetændelse).

Imidlertid er forbruget af antibiotika til mink i Danmark steget i flere år frem til 2012,

mens brugen af antimikrobielle stoffer i minkproduktion faldt i 2013 og 2014 (Anon., 2014; Jensen, 2016).

På nuværende tidspunkt er kun ét antimikrobielt produkt på det danske marked registreret specifikt til brug i mink. De øvrige antibiotika anvendes "off-label" og doseringen til mink er ikke videnskabeligt dokumenteret, men er ekstrapoleret fra andre dyrearter. Det betyder, at viden om optagelse af lægemidlet og koncentration i vævene i mink er begrænset.

Her præsenteres resultaterne af overvågningen af resistens over for antimikrobielle stoffer blandt sygdomsfremkaldende bakterier isoleret fra mink indsendt til diagnostisk undersøgelse på DTU-Veterinærinstituttet i 2014 og 2015.

Materiale og metoder

Bakterieisolater blev indsamlet fra mink indsendt til diagnostisk undersøgelse ved DTU-Veterinærinstituttet i perioden 2014-2015. Isolaterne blev indsamlet ved konventionel dyrkning fra patologisk materiale og identificeret ved MALDI-TOF.

Den minimale hæmmende koncentration (MIC) af forskellige antibiotika, der er nødvendig for at hæmme eller dræbe en mikroorganisme, blev bestemt ved bouillon fortynding (Sensititre, Trek Diagnostic Systems Ltd., UK) som anbefalet fra Clinical Laboratory Standards Institute (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2013).

Data om ordination af medicin til mink i perioden 2007-2015 blev trukket ud fra databasen VetStat (Stege, 2003; Anon., 2016). Denne undersøgelse inkluderede alle optegnelser om ordination af medicin til mink. Mængden af antimikrobielle stoffer er opgjort som antallet af Defined Animal Daily Doses (DADD) (Jensen,

2016). Det årlige medicinforbrug blev opgjort på 4. eller 5. ATCvet niveau (WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology, 2016), og divideret med den skønnede biomasse (biomasse x dage) inden for et givet år. Beregning af biomassen var baseret på data fra København Fur (Jensen, 2016).

Resultater

Der blev undersøgt resistensforhold for i alt 213 *Escherichia coli* isolater, 35 *Pseudomonas aeruginosa*, 19 *Streptococcus canis*, 15 *Streptococcus dysgalactia*, 38 *Staphylococcus delphini*, 4 *Staphylococcus aureus*, og 8 *Staphylococcus schleiferi*.

For *E. coli* isolaterne var der hyppigere resistens i de hæmolytiske isolater (tabel 1) end i de ikke-hæmolytiske (tabel 2). Der blev hyppigst fundet resistens over for ampicillin med henholdsvis 81,7 % og 47,7 %, af de hæmolytiske og ikke-hæmolytiske isolater. Endvidere var mellem 30-70 % af *E. coli*-isolater resistente over for streptomycin, sulfonamider, tetracycliner, og trimethoprim, og helt generelt lå resistensniveauerne for de hæmolytiske væsentligt over dem for ikke-hæmolytiske.

Alle *P. aeruginosa*-isolater var følsomme over for apramycin, ciprofloxacin, colistin og gentamicin, mens hovedparten af isolaterne var resistente over for alle andre antimikrobielle stoffer.

For *S. delphini* var tetracyclin-resistens mest udbredt (53 %), og resistensforekomsten var under 5 % for alle andre antibiotika. Én af de 4 *S. aureus*-isolater var af typen MRSA.

Alle *Streptococcus*-isolater var følsomme over for penicillin.

Forekomst af antibiotikaresistens i bakterieisolater fra danske mink

Tabel 1: Antimikrobiel resistens i hæmolytiske *E. coli* isolater fra danske mink, 2014-2015

Antimikrobiel stof	% Resistente isolater					
	Lever	Lunge	Fæces	Tarm	Andre ^a	Total
	(n=22)	(n=57)	(n=6)	(n=14)	(n=10)	(n=109)
Amox + clav	5	0	0	7.1	0	2
Ampicillin	82	81	100	86	70	82
Apramycin	0	0	0	0	0	0
Cefotaxime	0	0	0	0	10	1
Ceftiofur	0	0	0	0	10	1
Chloramphenicol	5	7	17	7	0	6
Ciprofloxacin	0	0	0	0	0	0
Colistin	0	0	0	0	0	0
Florfenicol	5	5	0	0	0	4
Gentamicin	0	5	0	0	0	3
Nalidixic acid	0	0	17	0	0	1
Neomycin	0	4	33	0	0	4
Spectinomycin	27	14	17	21	10	17
Streptomycin	59	46	100	64	50	54
Sulphamethoxazole	59	47	67	64	50	53
Tetracycline	36	61	100	50	50	55
Trimethoprim	41	39	33	29	25	39

^a Yver (n=4), milt (n=2) og bør (n=4)

Tabel 2: Antimikrobiel resistens i non-hæmolytiske *E. coli* isolater fra danske mink, 2014-2015

Antimikrobiel stof	% Resistente isolater					
	Lever	Lunge	Fæces	Tarm	Andre ^b	Total
	(n=23)	(n=37)	(n=14)	(n=23)	(n=7)	(n=104)
Amox + clav	0	0	0	0	0	0
Ampicillin	35	49	50	52	57	47*
Apramycin	0	0	0	0	0	0
Cefotaxime	0	0	0	9	0	2
Ceftiofur	0	0	0	4	0	1
Chloramphenicol	17	3	0	4	0	6
Ciprofloxacin	9	11	14	0	0	8*
Colistin	0	0	0	0	0	0
Florfenicol	0	0	0	0	0	0
Gentamicin	0	0	0	0	0	0
Nalidixic acid	9	8	7	0	0	6
Neomycin	4	0	0	0	0	1
Spectinomycin	13	16	7	22	0	14
Streptomycin	26	41	29	39	29	35*
Sulphamethoxazole	26	35	21	44	29	33*
Tetracycline	26	30	44	16	43	28*
Trimethoprim	26	22	11	16	14	30

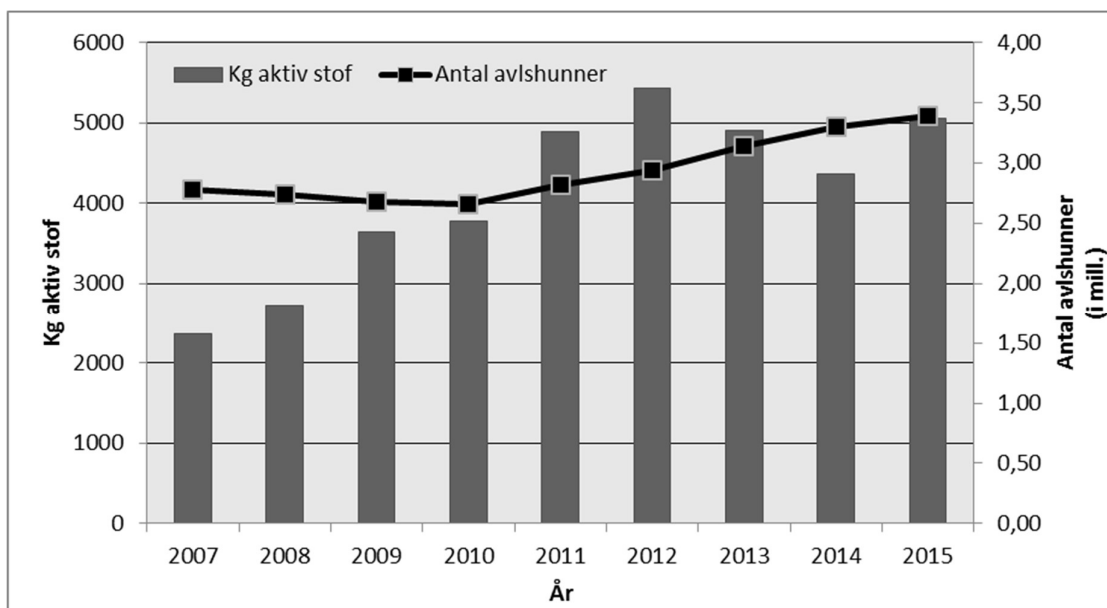
^bMilt (n=2), bughule (n=2), skind (n=1), nyre (n=1) and yver (n=1).

* Angiver statistisk signifikant forskel fra hæmolytiske isolater (Tabel 1)

Det samlede forbrug af antibiotika i minkproduktion målt i kg aktivt stof, steg med 130 % fra 2007 til 2012 og derefter sås en stagnation af mængden af ordineret medicin (figur 1).

Stigningen i medicinforbruget kan kun i begrænset omfang forklares ved en stigning i antallet af avlshunner i den samme periode (figur 1). Sættes forbruget, målt i standardiserede døgn doser (DADD til behandling af 1 kg dyr), i forhold til populationens størrelse (målt som kg

biomasse), sås følgende ændringer i forbruget: Antibiotikaforbruget steg fra 23 DADD/(1000 biomasse * dage) i 2007 til 48 DADD/(1000 biomasse * dage) i 2012, og efterfølgende reduceret til 30 DADD/(1000 biomasse * dage) i 2014-2015. Stigningen i perioden 2007-2012 skyldtes primært en stigning i forbruget af aminopenicilliner (hovedsagelig amoxicillin), tetracykliner og makrolider, der er de mest anvendte antimikrobielle stoffer til mink. Der ordineres mest medicin pr. kg biomasse i dieperioden.



Figur 1: Anvendelse af antibiotika (opgjort i kg aktivt stof per år) ordineret til danske mink, 2007 - 2015, og antallet af avlshunner.

Diskussion

E. coli-infektioner hos mink ses hyppigst ved tarmbetændelse, lungebetændelse eller blodforgiftning. Den store forekomst af resistens i hæmolytiske *E. coli* og forhold til ikke-hæmolytiske *E. coli* kan skyldes det høje forbrug af især aminopenicilliner til behandling af kuld med diarré. Denne sammenhæng underbygges af en tidligere undersøgelse (Aarestrup *et al.*, 2001), som også viste, at streptomycin, tetracykliner, sulfonamider, spectinomycin og trimethoprim var de fem antibiotika med de største andele af resistens, med 10-30% resistente isolater.

Den høje forekomst af resistens hos hæmolytiske *E. coli*, med mere end 50 % resistens over for streptomycin, sulfonamider og tetracykliner, kan indikere en generel stigning i udviklingen af resistens blandt *E. coli* for disse antibiotika. Stigningen kan skyldes en direkte effekt af brugen af disse antibiotika og eventuel co-selektion (Tadesse *et al.*, 2012).

Der er dokumenteret hyppigere forekomst af resistens i hæmolytiske end i ikke-hæmolytiske *E. coli*. Dette er tidligere også observeret i danske mink (Vulfson *et al.*, 2001), men årsagen kendes ikke. Måske er disse stammer mere

sygdomsfremkaldende i mink og derfor bliver der hyppigere anvendt antibiotika i behandlingen og dermed er sandsynligheden for at der udvikles resistens også højere.

Pseudomonas aeruginosa har en naturlig resistens over for de fleste antibiotika (Blondel-Hill *et al.*, 2007). Dette ses også i danske isolater. Ved sammenligning med data fra 2008 ses der en stigning i forekomsten af resistente isolater over for ceftiofur, nalidixan og florfenicol. Disse antimikrobielle stoffer anvendes ikke til behandling af smitsom lungebetændelse hos mink.

I denne undersøgelse indgik både gruppe G (*S. canis*) og gruppe C (*S. dysgalactiae*) streptokokker. Der blev ikke fundet isolater med resistens over for penicillin, cefoxitin, phenicoler, gentamicin, trimethoprim eller kombinationen af sulfonamider med trimethoprim. Særlig det forhold at alle streptokokker er følsomme for simple penicilliner er meget positivt. Blandt *S. delphini* var 53% af isolaterne resistente mod tetracyclin, ganske som i 2008 (Pedersen *et al.*, 2008).

Der var kun inkluderet 4 *S. aureus* isolater, hvorfor det ikke er muligt at konkludere på resistensforholdene.

Konklusion

Anvendelse af antimikrobielle stoffer til behandling af bakterielle infektionssygdomme i mink er nødvendige i forbindelse med kliniske sygdomme, men betyder samtidig en risiko for udvikling af resistens i de bakterier, som behandlingen retter sig imod. Den stigende brug af antibiotika i de seneste år har betydet stigende forekomst af resistente isolater – særlig for hæmolytiske *E. coli*.

Anerkendelser

Denne undersøgelse blev finansieret af Pelsdyragiftsfonden, 2014, 2015 og 2016, samt Fødevestyrelsen. Susanne

Ranebro og Pia Thurø Hansen takkes for uvurderlig indsats med det praktiske arbejde

Referencer

Aarestrup FM, Seyfarth AM, Emborg H-D, Pedersen K, Hendriksen RS, Bager F. Effect of abolishment of the use of antimicrobial agents for growth promotion on occurrence of antimicrobial resistance in fecal enterococci from food animals in Denmark. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45:2054. DOI:10.1128/AAC.45.7.2054-2059.2001.

Anonymous. DANMAP 2014 - Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food and humans in Denmark. Copenhagen, Denmark, ISSN 1600-2032, 2015.

Anonymous. VetStat. The Danish Veterinary and Food Administration. Available from: <http://www.foedevarestyrelsen.dk/Leksikon/Sider/VetStat.aspx> Last accessed April 10 2016.

Blondel-Hill E, Henry DA, Speert DP. *Pseudomonas*. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA, eds. *Manual of Clinical Microbiology*, 9th Edition, Washington, DC: ASM Press 2007:734-748.

Chriél M, Harslund JF, Jensen TH, Jakobsen E, Hammer AS, Lassen-Nielsen AM. Antimicrobials in mink - consumption and resistance patterns. P.F. Larsen *et al.* (eds), *Proc. Xth International Scientific Congress in Fur Animal Production*, DOI 10.3920/978-90-8686-760-8_23, (C) Wageningen Academic Publishers 2012.

Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility test for bacteria isolated from animals; Approved standard – fourth ed.

CLSI document VET01-A4, CLSI, Wayne, Pennsylvania, USA, 2013

Garcia-Miguera L, Hendriksen RS, Fraile L, Aarestrup FM. Antimicrobial resistance of zoonotic and commensal bacteria in Europe: The missing link between consumption and resistance in veterinary medicine. *Vet Microbiol* 2014;170:1-9.

Jensen VF, Sommer HM, Struve T, Clausen J, Chriél M. Factors associated with usage of antimicrobials in commercial mink (*Neovison vison*) production in Denmark. *Prev Vet Med* 2016;126:170–182

Pedersen K, Hammer AS, Sørensen CM, Heuer OE. Usage of antimicrobials and occurrence of antimicrobial resistance among bacteria from mink. *Vet Microbiol* 2008;133:115-122.

Stegge H, Bager F, Jacobsen E, Thougard A. VETSTAT-the Danish system for surveillance of the veterinary use of drugs

for production animals. *Prev Vet Med* 2003;57:105-15.

Tadesse DA, Zhao S, Tong E, Ayers S, Singh A, Bartholomew MJ, McDermott PF. Antimicrobial drug resistance in *Escherichia coli* from humans and food animals, United States, 1950–2002. *Emerg Infect Dis* 2012;18: 741-749.

Vulfson L, Pedersen K, Chriél M, Frydendahl K, Andersen Holmen T, Madsen M, Dietz HH. Serogroups and antimicrobial susceptibility among *Escherichia coli* isolated from farmed mink (*Mustela vison* Schreiber) in Denmark. *Vet Microbiol* 2001;79:143-153.

WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology. New ATC/DDDs and alterations from the October 2015 meeting. Available from: http://www.whocc.no/news/new_atc_ddds_and_alterations_from_the_october_2015_meeting Last accessed April 10 2016.