

Antibiotikaresistens hos campylobacter

— jämförelse mellan isolat från kycklingkött
och från patienter



Folkhälsomyndigheten



Livsmedelsverket

Denna titel kan laddas ner från: [Livsmedelsverkets publikationer](#).

Citera gärna Livsmedelsverkets texter, men glöm inte att uppge källan. Bilder, fotografier och illustrationer är skyddade av upphovsrätten. Det innebär att du måste ha upphovsmannens tillstånd att använda dem.

© Livsmedelsverket, 2021.

Författare:

Livsmedelsverket och Folkhälsomyndigheten.

Rekommenderad citering:

Livsmedelsverket och Folkhälsomyndigheten. Egervärn M, Börjesson S, Jernberg C, Riedel H, Thebo L, Flink C. 2021. S 2021 nr 02: Antibiotikaresistens hos campylobacter — jämförelse mellan isolat från kycklingkött och från patienter. Livsmedelsverkets rapportserie. Uppsala.

S 2021 nr 02

ISSN 1104-7089

Omslag: Livsmedelsverket

Förord

Rapporten redovisar resultatet av ett projekt som Folkhälsomyndigheten och Livsmedelsverket har genomfört i samarbete 2020-2021 för att öka kunskapen om antibiotikaresistens hos campylobacter som påvisats på kycklingkött i butik och hos patienter i Sverige. Rapporten utgör underlag för källattribution, riskvärdering och -hantering gällande campylobacter på kycklingkött. Detta är i linje med regeringens ambitioner som de uttrycks i den nationella strategin mot antibiotikaresistens och den nationella livsmedelsstrategin.

Projektet har också bidragit till att myndigheterna har en gemensam grund för hur helgenomsekvensering och bioinformatisk analys kan användas för att övervaka och kartlägga antibiotikaresistens hos campylobacter i livsmedelskedjan.

Författare av rapporten:

Livsmedelsverket

Maria Egervärn, riskvärderare, Risk- och nyttovärderingsavdelningen; Hilde Riedel, mikrobiolog, Biologiavdelningen; och Catarina Flink, mikrobiolog, Biologiavdelningen

Folkhälsomyndigheten

Cecilia Jernberg, sakkunnig mikrobiolog, Enheten för Laborativ bakterieövervakning, Lina Thebo, handläggare/mikrobiolog, Enheten för Laborativ bakterieövervakning; och Stefan Börjesson, utredare/mikrobiolog, Enheten för Laborativ bakterieövervakning

Rapporten har granskats av:

Petra Edquist, tillförordnad enhetschef för Laborativ bakterieövervakning, Folkhälsomyndigheten; Anders Folkesson, chef för teamet Mikrobiologi, Biologiavdelningen, Livsmedelsverket; Mats Lindblad, smittskyddssamordnare, Avdelningen för säkra livsmedel, Livsmedelsverket; och Roland Lindqvist, chef för teamet Biologiska faror, Risk- och nyttovärderingsavdelningen, Livsmedelsverket.

Livsmedelsverket

Maria Sitell
Avdelningschef, Biologiavdelningen

Folkhälsomyndigheten

Andreas Bråve
Tf Avdelningschef, Avdelningen för mikrobiologi

December 2021

Innehåll

Förord	3
Ordlista och förkortningar	7
Sammanfattning	9
Summary	11
Antibiotic resistance in campylobacter – comparison between isolates from chicken meat and from Swedish patients	11
Bakgrund	13
Antibiotikabehandling och resistens hos campylobacter	14
Syfte	15
Utförande	16
Urval av bakterieisolat	16
Isolat från kycklingkött	16
Isolat från patienter	16
Karaktärisering av bakterieisolat	16
Helgenomsekvensering	16
Genotypisk resistensbestämning	17
Fenotypisk resistensbestämning	17
Släktskapsanalys	17
Statistik	18
Resultat	19
Antibiotikaresistens hos campylobacter från kycklingkött	19
Genotypisk resistens hos Campylobacter jejuni	19
Genotypisk resistens hos Campylobacter coli och Campylobacter lari	22
Antibiotikaresistens hos campylobacter från patienter	22
Genotypisk resistens hos C. jejuni	22
Genotypisk resistens hos C. coli	24
Jämförelse mellan resistent campylobacter från kycklingkött och från patienter	25
Jämförelse av resistensmarkörer	25
Släktskap och koppling till resistensmarkörer	26
Jämförelser av databaser för bioinformatisk resistensbestämning	29
Överensstämmelse mellan genotypisk och fenotypisk resistensdata	30
Diskussion	32
Jämförelse av resistensmarkörer hos C. jejuni från kycklingkött och från patienter	32
Resistensmarkörer hos C. jejuni från kycklingkött	32

Resistensmarkörer hos <i>C. jejuni</i> hos patienter	33
Koppling mellan släktskap och antibiotikaresistensprofil.....	34
Genomgång av bioinformatiska verktyg och databaser	35
Att använda genotypisk resistensbestämning i övervakningssyfte	36
Slutsatser	37
Bilaga	38
Verknings- respektive resistensmekanismer hos <i>campylobacter</i> för fluorokinoloner, makrolider, tetracykliner och aminoglykosider beskrivs nedan.	38
Fluorokinoloner	38
Makrolider	38
Tetracykliner.....	39
Aminoglykosider	39
Betalaktamer	40
Referenser	41

Ordlista och förkortningar

Bioinformatisk analys	Datorstött informationsbehandling och analys av DNA-, RNA- och proteinsekvensdata.
Fenotypisk resistensbestämning	Metod för att bestämma hur en bakteries tillväxtförmåga påverkas i närvaro av ett antibiotikum, vilket kan sägas motsvara den observerade resistensen som en gen eller mutation i en gen ger upphov till om den uttrycks.
Genetisk markör	Benämning på den typ av DNA-sekvens man avser att studera vid en viss analys. I rapporten används begreppet resistensmarkör; gen eller kromosomal mutation för resistens mot visst antibiotikum.
Genotypisk resistensbestämning	Påvisande av en gen eller mutation i gen som ger upphov till en viss resistensmekanism (tar inte hänsyn till om genen uttrycks eller inte).
Helgenomsekvensering	Metod för att bestämma sekvensen - ordningsföljden hos byggstenarna - för arvsmassan hos en organism.
Isolat	Enskild bakterie som odlats fram och isolerats från en blandad bakteriepopulation, i detta fall från kycklingkött eller prov från människa.
Klon	Population av genetiskt mycket närbesläktade bakterieceller med gemensamt genetiskt ursprung.
Kluster	Samling av två eller fler genetiskt mycket lika eller identiska isolat som indikerar ett i tiden nära gemensamt ursprung.
Klusteranalys	Metod för att gruppera isolat med avseende på likheter i arvsmassan.
Källattribution	Metod som syftar till att, med hjälp av epidemiologiska och/eller mikrobiologiska data, relatera sjukdomsfall till olika smittkällor.
MIC-värde	Minimal Inhibitory Concentration. Den lägsta koncentrationen antibiotika som krävs för att hämma tillväxten hos en bakterie.

MLST	Multilocus Sequence Typing. En molekylärbiologisk typningsmetod baserad på att bestämning av DNA-sekvensen hos sju gener, där varje gen tilldelas ett specifikt löpnummer. De sju löpnumren kombineras sedan till en nummersekvens som tilldelas ett specifikt sekvenstyp (ST)-nummer. Används för att övergripande undersöka släktskap mellan bakterieisolat.
Mosaikgen	Gen som genom DNA-rekombination består av delar av flera olika gener.
Multiresistens	Resistens mot tre eller fler antibiotikaklasser.
RAF	Referensgruppen för antibiotikafrågor.
Sensitivitet	Statistiskt mått som anger testmetods tillförlitlighet i form av sannolikheten för positivt testresultat när positivt resultat är det korrekta resultatet.
Specificitet	Statistiskt mått som anger testmetods tillförlitlighet i form av sannolikheten för negativt testresultat när negativt resultat är det korrekta resultatet.
SNP-analys	Analys av enbaspolymorfi (Single Nucleotide Polymorphism) där man utifrån jämförelser av arvsmassa identifierar skillnader i enskilda byggstenar (nukleotider) mellan bakterieisolat. Används för släktskapsanalyser och är mer detaljerad än exempelvis MLST.
Typning	Metodik för karaktärisering av bakterieisolat av samma art för att undersöka släktskap och egenskaper hos isolaten.
WGS	Whole Genome Sequencing. Helgenomsekvensering.

Sammanfattning

Under 2016 och 2017 inträffade det största kända livsmedelsburna utbrottet med campylobacter i Sverige. Utbrottet kunde kopplas till svenskproducerat färskt kycklingkött. Folkhälsomyndigheten och Livsmedelsverket undersökte därför betydelsen av sådant kött som smittkälla genom att genetiskt jämföra campylobacter från kycklingkött i butik och campylobacter från smittade människor. Under 2018 och 2019 insamlades sammanlagt 103 isolat av Campylobacter jejuni från kött och 272 isolat från patienter. Dessa helgenomsekvenserades, det vill säga bakteriernas arvs massa undersöktes. Dessutom sekvenserades totalt 20 isolat av arterna Campylobacter coli och Campylobacter lari.

Inom detta projekt har dessa isolat sedan undersökts för resistens mot antibiotika med hjälp av bioinformatisk analys av sekvenseringsdata hos de två deltagande myndigheterna. Syftet var att undersöka förekomsten av kända genetiska markörer (gener och kromosomala mutationer) för antibiotikaresistens hos campylobacter. Syftet var också att undersöka i vilken grad olika resistensmarkörer hos campylobacter från kycklingkött och från patienter stämmer överens, och ifall besläktade campylobacter från dessa båda provtyper kunde kopplas till ett visst mönster av antibiotikaresistens.

Totalt 67 av 79 isolat (85 procent) av C. jejuni från svenskt kycklingkött hade inga mutationer eller gener förknippade med resistens mot de kliniskt viktiga antibiotikaklasserna makrolider, kinoloner, tetracykliner eller aminoglykosider. Andelen isolat från utländskt kött som inte hade sådana resistensmarkörer var mindre – 14 av 24 isolat (58 procent). Beträffande C. jejuni från patienter var det 162 av 212 isolat (76 procent) från inhemska sjukdomsfall och 11 av 53 isolat (21 procent) från utlandssmittade som inte hade några sådana resistensmarkörer.

Inga isolat, varken från kött eller från patienter, innehöll markörer för resistens mot makrolider, som numera är förstahandsval i Sverige för infektioner med campylobacter. Multiresistens, det vill säga markörer för minst tre av dessa antibiotikaklasser, återfanns bara hos tre isolat från patienter, varav två hade utlandskoppling. Den överlag vanligaste resistenstypen hos isolat från både kycklingkött och patienter var gener för resistens mot betalaktamer av typen OXA. Betalaktamer är en antibiotikaklass som inte rekommenderas för behandling av campylobacterinfektioner.

Den vanligast förekommande markören för resistens mot någon av de kliniskt viktiga klasserna av antibiotika var mutationen gyrA_T86I som ger resistens mot kinoloner, följt av genen tet(O) som ger resistens mot tetracykliner och genen aph(3')-IIIa som ger resistens mot aminoglykosider.

Samma typer av markörer för resistens mot kliniskt viktiga antibiotika återfanns hos isolat från både kycklingkött och patienter oavsett köttets ursprung eller var man smittats. Markörerna var dock klart vanligast hos isolat från patienter som troligen hade smittats utomlands, följt av utländskt kycklingkött. En av orsakerna till den relativt högre andelen antibiotikaresistens hos C. jejuni från utländskt kött och patienter som smittats utomlands kan vara att man i Sverige generellt sett har lägre användning av antibiotika både till människor och livsmedelsproducerande djur jämfört med andra länder.

För att undersöka hur de olika bakterieisolaten var genetiskt besläktade utfördes klusteranalyser baserade på så kallad SNP-analys. Dessa analyser jämförde C. jejuni från kycklingkött och från patienter och visade att närbesläktade isolat bar på samma typ av resistensmarkörer, alternativt saknade markörer. Nära

släktskap kunde framförallt påvisas mellan isolat från svenskt kycklingkött och patienter som rapporterats smittade i Sverige.

Undersökningen gällde främst förekomsten av antibiotikaresistens hos campylobacter. Men den utvärderade också förmågan hos olika bioinformatiska verktyg och tillhörande databaser avsedda för resistensbestämning att hitta resistensmarkörer. AMRFinderPlus detekterade fler resistensmarkörer i generellt fler isolat av *Campylobacter* spp. än ResFinder och staramr. Överensstämmelsen mellan detekterade resistensmarkörer och fenotypisk resistens hos isolaten var högst för kinolonmutationen *gyrA* med AMRFinder. Överensstämmelsen för genen *tet(O)* som ger tetracyklinresistens var något lägre än tidigare rapporterat för både AMRFinder och Resfinder/staramr. Ingen fenotypisk resistens för makrolider påvisades hos isolaten, vilket överensstämmer med att det inte heller detekterades några sådana resistensmarkörer.

För resistensövervakningen av bakterier inom EU är det nu möjligt att rapportera data baserat på helgenomsekvensering och bioinformatisk analys. Detta projekt har bidragit till att svenska myndigheter har en gemensam metodik för att övervaka och kartlägga antibiotikaresistens hos campylobacter i livsmedelskedjan.

Summary

Antibiotic resistance in campylobacter – comparison between isolates from chicken meat and from Swedish patients

In 2016-2017, the largest known food-borne outbreak of campylobacteriosis occurred in Sweden, which could be linked to the consumption of domestic fresh chicken meat. As a result of the outbreak, the Swedish Public Health Agency and the Swedish Food Agency investigated the importance of such meat as a source of campylobacter infection by genetically comparing campylobacter from retail chicken meat and campylobacter from Swedish patients. A total of 103 *Campylobacter jejuni* isolates from meat, and 272 isolates from patients, were collected and sequenced in 2018 and 2019. In addition, 20 *Campylobacter coli* isolates and *Campylobacter lari* isolates were sequenced.

In the present study, antibiotic resistance of all isolates was assessed by bioinformatics analysis of sequencing data at the respective authority. The aim was to investigate the presence of described genetic determinants (genes and chromosomal mutations) encoding antibiotic resistance in campylobacter. A further aim was also to investigate the extent to which different resistance determinants of campylobacter from chicken meat and from patients overlap, and whether related campylobacter from these two sample types could be linked to a certain antibiotic resistance profile.

In 67 (85 percent) of the 79 isolates of *C. jejuni* from Swedish chicken meat, no mutations or genes encoding resistance to the clinically important antibiotic classes macrolides, quinolones, tetracyclines, or aminoglycosides were identified, whereas 14 (58 percent) of the 24 isolates from meat obtained from other countries lacked such resistance determinants. For *C. jejuni* from patients, 162 (76 per cent) of the 212 isolates from domestically acquired infections and 11 (21 per cent) of the 53 isolates from travel-related cases contained no such determinants. None of the isolates from either meat or patients contained determinants for resistance to macrolides, which are first-line antibiotics in Sweden to treat severe campylobacter infections. Multidrug resistance, i.e. determinants for at least three of these classes of antibiotics, was identified only in three isolates from patients, two of whom had likely been infected abroad.

The overall most common resistance determinant in isolates from both chicken meat and patients was *bla_{OXA}* genes for resistance to beta-lactams, which are not recommended for treatment of campylobacter infections. The most prevalent resistance determinant identified among the clinically important antibiotic classes was the *gyrA*_T86I mutation, which confers resistance to quinolones, followed by the tetracycline resistance gene *tet(O)* and the aminoglycoside resistance gene *aph(3')-IIIa*.

The same types of determinants for resistance to clinically important antibiotics were identified in isolates from both chicken meat and patients, regardless of origin, or where the infections were acquired, respectively. However, the determinants were most frequently identified in isolates from patients infected abroad, followed by chicken meat from other countries. One of the reasons for the relatively higher proportion of antibiotic resistance in *C. jejuni* from such meat and this type of patient could be the generally lower usage of antibiotics in Sweden compared to other countries, both in food-producing animals and in humans.

Cluster analyses based on so-called SNP analysis were performed to investigate genetic relationships between the bacterial isolates. These comparative analyses between *C. jejuni* from chicken meat and from patients showed that closely related isolates carried the same type of resistance determinants or lacked determinants. Close relationships could mainly be demonstrated between isolates from Swedish chicken meat and patients infected in Sweden.

As part of investigating the presence of antibiotic resistance in campylobacter, the ability of various bioinformatics tools and associated databases to detect resistance determinants was evaluated.

AMRFinderPlus detected more resistance determinants in more isolates of *Campylobacter* spp. than ResFinder and staramr. The agreement between detected resistance determinants and phenotypic resistance of the isolates was highest for the quinolone mutation *gyrA* with AMRFinder, while the agreement for the *tet(O)* gene, which confers tetracycline resistance, was slightly lower than previously reported for both AMRFinder and Resfinder/staramr. No phenotypic resistance to macrolides was observed in the isolates, which was consistent with the fact that no such resistance determinants were identified either.

For bacterial resistance surveillance in the EU, it is now possible to report data based on whole genome sequencing. This project contributes to Swedish authorities having a common basis for how whole genome sequencing and bioinformatics analysis can be used for surveillance and mapping of antibiotic resistance in campylobacter in the food chain.

N.B. The title of the publication is translated from Swedish, however no full version of the publication has been produced in English.

Bakgrund

Campylobacter är den vanligast inrapporterade bakteriella orsaken till magsjuka i Sverige (Folkhälsomyndigheten, 2021a). Antalet inhemska sjukdomsfall som beror på sådan matförgiftning har uppskattats till omkring 40 000 per år för perioden 2013-2017, och en viktig smittkälla är färskt kycklingkött (Livsmedelsverket, 2019). Under 2016 och 2017 inträffade det största kända livsmedelsburna utbrottet med campylobacter i Sverige, vilket kunde kopplas till svenskproducerat kycklingkött (Folkhälsomyndigheten, 2021b). Ytterligare ett utbrott med koppling till svensk kycklingproduktion inträffade under 2018, och under hösten 2020 rapporterades återigen om ett utbrott kopplat till svenskt kycklingkött (Folkhälsomyndigheten, 2021c, Folkhälsomyndigheten, 2021d).

Campylobacter jejuni är den art av campylobacter som orsakar störst andel sjukdomsfall hos människa, följt av C. coli (Efsa och ECDC, 2021). Dessa båda arter är också vanligast förekommande hos kyckling, oftast med C. jejuni som den dominerande arten i Europa (Efsa och ECDC, 2021).

Antibiotikaresistens är ett globalt växande hälsoproblem. Bara i Europa har man uppskattat att mer än 30 000 personer dör varje år i infektionssjukdomar orsakade av bakterier som är resistent mot antibiotika (Cassini et al., 2019). Vid den senaste EU-rapporteringen av data från resistensövervakningen påvisades en hög andel fluorokinolon- respektive tetracyklinresistent campylobacter från såväl människor, som fjäderfä och kött (Efsa och ECDC, 2021). Till skillnad mot antibiotikaresistens hos campylobacter från slaktkyckling är resistens hos campylobacter från patienter och olika köttslag inte obligatoriskt att övervaka inom EU¹ (EU-kommissionens genomförandebeslut 2020/1729, ECDC, 2016). Data om antibiotikaresistent campylobacter från framförallt kött är därför bristfälliga överlag. Campylobacter (C. jejuni) från kycklingkött resistensbestämde inom det svenska övervakningsprogrammet Svarm 2013 (SVA och Folkhälsomyndigheten, 2013), medan campylobacter från slaktkyckling resistensbestäms vartannat år. Data från kliniska mikrobiologiska laboratorier rörande resistent campylobacter från patienter sammanställs varje år tillsammans med resistensdata från djur och kött i rapporten Swedres-Svarm. Resistensbestämning av isolat utförs primärt hos fall med systemisk infektion och inkluderar inte campylobacter från feces.

Resistensbestämning av campylobacter är framför allt baserad på fenotypiska egenskaper hos bakterierna. Resistensbestämning kan också utföras genotypiskt, med PCR-baserade metoder eller helgenomsekvensering, som innebär att undersöka förekomsten av genetiska markörer (antibiotikaresistensgener och mutationer i kromosomalt DNA) för antibiotikaresistens. Där man med PCR endast kan leta efter ett begränsat antal gener och mutationer kan man med helgenomsekvensering, bioinformatiska verktyg och definierade databaser undersöka alla kända resistensmarkörer. Studier har visat att den genotypiska resistensbestämningen är överlag jämförbar med den fenotypiska (Fabre et al., 2018, Whitehouse et al., 2018, Zhao et al., 2016). På senare tid har det inom resistensövervakningsprogrammen blivit möjligt att använda genotypisk resistensbestämning med hjälp av helgenomsekvensering och bioinformatisk analys som komplement till den fenotypiska. Det gäller EU-övervakningen av ESBL-bildande tarmbakterier från livsmedelsproducerande djur och kött (EU-

¹ Enligt EU-kommissionens genomförandebeslut 2018/945 bör resistensbestämning göras och rapporteras för en representativ delmängd av campylobacter-isolat från människor.

kommissionens genomförandebeslut 2020/1729), liksom antibiotikaresistens hos campylobacter och salmonella från människor (ECDC, 2016). Eftersom den genotypiska resistensbestämningen ibland kan avvika från den fenotypiska och eftersom man bara kan undersöka kända markörer och resistens kan orsakas av flera faktorer, används i dagsläget den genotypiska analysen enbart för övervakning och inte vid behandling av patienter.

Med anledning av campylobacterutbrottet 2016-2017 genomförde Livsmedelsverket en kartläggning under våren och sensommaren 2017 för att dels undersöka förekomsten av campylobacter på färskt kycklingkött i butik och dels, tillsammans med Folkhälsomyndigheten, undersöka i vilken grad sådant kött utgör källa för campylobacterinfektioner i Sverige (Livsmedelsverket och Folkhälsomyndigheten, 2018). Uppföljande kartläggningar och jämförande genetiska analyser mot humandata har genomförts under sensommaren 2018 respektive 2019 (Folkhälsomyndigheten och Livsmedelsverket, 2020, Livsmedelsverket och Folkhälsomyndigheten, 2019), vilket har genererat en samling isolat av campylobacter från kycklingkött och patienter. Campylobacterinfektion, som räknas som en allmänfarlig sjukdom, ingår sedan 2017 i Folkhälsomyndighetens nationella mikrobiella övervakningsprogram (Folkhälsomyndigheten, 2021e). Isolat från personer anmälda som smittade i Sverige, alternativt okänt smittland, samlades under perioden 2017-2019 in från landets kliniska mikrobiologiska laboratorier under lågsäsong (en till två veckor i mars) respektive högsäsong (en till två veckor i augusti). Syftet är att följa den molekylära epidemiologin och att utvärdera insatser för att minska antalet inhemska fall av infektion med campylobacter.

Mot ovanstående bakgrund, och baserat på de isolat av campylobacter som samlats in vid Livsmedelsverket och Folkhälsomyndigheten under 2018 och 2019, genomfördes detta projekt mellan de båda myndigheterna för att öka kunskapen om resistensläget hos campylobacter som påvisats på kycklingkött och hos patienter i Sverige.

Antibiotikabehandling och resistens hos campylobacter

Tarminfektioner med campylobacter är som regel självläkande inom en till två veckor (Svenungsson och Hertting, 2018). Antibiotika ges endast vid svåra och långvariga infektioner, såsom infektioner som orsakar sepsis och till patienter med nedsatt immunförsvar. I Sverige används azalidantibiotikumet azitromycin eller den kemiskt nära besläktade makroliden erytromycin som förstahandsmedel för att behandla sådana typer av infektioner (Svenungsson och Hertting, 2018, RAF, 2019). Fluorokinoloner är däremot inte längre ett förstahandsval i Sverige vid svåra tarminfektioner med campylobacter på grund av hög resistens mot sådana preparat (RAF, 2019). Fluorokinoloner och makrolider, inklusive azalider är de antibiotikagrupper som är eller har varit viktigast inom sjukvården även internationellt vid behandling av svåra och långvariga infektioner med campylobacter (Efsa och ECDC, 2021, Kaakoush et al., 2015). Dessa båda grupper har bedömts av WHO (2019) vara särskilt viktiga för folkhälsan och ha högst prioritet för att sådana antibiotika ska vara fortsatt verksamma mot olika bakteriearter. Även tetracykliner och vissa aminoglykosider används globalt för att behandla campylobacterinfektioner (Bolton, 2015, Kaakoush et al., 2015, Shen et al., 2018). Antibiotika av typen fluorokinoloner (ciprofloxacin), makrolider (erytromycin), tetracykliner (tetracyklin) och aminoglykosider (gentamicin) har därför högst prioritet i övervakningen inom EU gällande antibiotikaresistens hos campylobacter från människor (ECDC, 2016). Dessa antibiotika ingår också i resistensbestämningen av campylobacter från livsmedelsproducerande djur inom EU, enligt beslut 2020/1729/EU. Verknings- respektive resistensmekanismer hos campylobacter för dessa antibiotikaklasser beskrivs i bilaga.m

Syfte

Projektets huvudsakliga syfte var att med hjälp av helgenomsekvensering undersöka förekomsten av kända gener och kromosomala mutationer som ger antibiotikaresistens hos campylobacter som isolerats från färskt kycklingkött på den svenska marknaden och från patienter i Sverige. Syftet var också att undersöka i vilken grad sådana resistensmarkörer och resistenta kloner av campylobacter från kycklingkött och patienter stämmer överens. Detta för att öka kunskapen om resistensläget hos campylobacter i Sverige och för att få underlag till källattribution, riskvärdering och -hantering gällande campylobacter på kycklingkött.

Som en del i att undersöka genotypisk antibiotikaresistens hos campylobacter utvärderades förmågan hos olika bioinformatiska verktyg och tillhörande databaser för resistensbestämning att detektera resistensmarkörer och hur väl dessa markörer överensstämmer med resistensfenotyp hos campylobacter. Projektet syftar således även att bidra till att myndigheterna har en gemensam grund i val av tillvägagångssätt för att implementera helgenomsekvensering och bioinformatisk analys som verktyg för övervakning och kartläggning av antibiotikaresistens hos campylobacter i livsmedelskedjan.

Utförande

Urval av bakterieisolat

Isolat från kycklingkött

Isolat av campylobacter samlades in under Livsmedelsverkets kartläggningar av kycklingkött från butik i augusti 2018 respektive augusti 2019 (Folkhälsomyndigheten och Livsmedelsverket, 2020, Livsmedelsverket och Folkhälsomyndigheten, 2019).

Färskt kycklingkött köptes i butiker i Stockholms- och Uppsalaregionen. Provinsamlingen syftade till en jämn fördelning av prov i kategorierna ekologisk kyckling, utländsk kyckling, svensk konventionellt uppfödd kyckling från Sveriges största slakteri samt övrig svensk konventionellt uppfödd kyckling. I första hand inköptes hel kyckling, men då sådan inte fanns i tillräcklig mängd kompletterades det med styckdetaljer. I möjligaste mån undveks dubblettprover avseende uppfödare och produktionsdatum.

Campylobacter odlades fram från de insamlade proven av kycklingkött och artbestämdes inom tidigare utförda kartläggningar (Folkhälsomyndigheten och Livsmedelsverket, 2020, Livsmedelsverket och Folkhälsomyndigheten, 2019). Totalt renodlades 111 unika isolat, varav 103 Campylobacter jejuni, 7 Campylobacter coli och 1 Campylobacter lari.

Isolat från patienter

Isolat av campylobacter samlades in under en till två veckor i augusti år 2018 och 2019 från de kliniska mikrobiologiska laboratorierna. Isolaten kommer framför allt från personer som rapporterats som smittade i Sverige, men även isolat från personer som smittats utomlands ingår.

Totalt insamlades 284 isolat, varav majoriteten var C. jejuni (n=272) och resterande (n=12) var C. coli. Av dessa hade 212 av C. jejuni rapporterats som smitta som skett i Sverige, 53 som utlandssmitta och 7 med okänt smittland. Två av tolv C. coli var associerade med inhemsk smitta.

Ytterligare 16 isolat av campylobacter från patienter, vilka samlades in 2020 eller under mars 2018 respektive 2019, inkluderades för att utöka underlaget av isolat vid jämförelsen av bioinformatiska verktyg och de två databaserna samt av genotypisk respektive fenotypisk resistens.

Karaktärisering av bakterieisolat

Helgenomsekvensering

Campylobacter från kycklingkött och patienter typades med helgenomsekvensering inom ramen för tidigare samarbetsprojekt mellan Folkhälsomyndigheten och Livsmedelsverket (Folkhälsomyndigheten och Livsmedelsverket, 2020, Livsmedelsverket och Folkhälsomyndigheten, 2019). Typningen har utförts med Illumina-teknologi av SciLifeLab (Stockholm) enligt gängse metodik för DNA-extraktion vid respektive myndighet, bibliotekspreparation samt påföljande sekvensering (SciLifeLab, 2021).

Genotypisk resistensbestämning

Kända antibiotikaresistensgener och resistensrelaterade punktmutationer detekterades genom bioinformatisk analys av de sekvenserade isolaten med hjälp av fritt tillgängliga verktyg och resistensdatabaser. Totalt utvärderades tre olika verktyg och två olika databaser; AMRFinderPlus 3.10 (<https://github.com/ncbi/amr>) (Feldgarden et al., 2019), som använder sig av NCBI's "Curated Reference Gene Catalog" (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pathogens/refgene/#>) som databas, samt ResFinder 4.1 (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/ResFinder>) (Bortolaia et al., 2020, Zankari et al., 2017) och staramr 0.7.2 (<https://github.com/phac-nml/staramr>), som båda använder sig av databasen tillhörande Center for Genomic Epidemiology Resfinder och PointFinder (<https://www.genomicepidemiology.org>).

Genotypisk resistensbestämning av isolat från kycklingkött med ResFinder 4.1 utfördes genom att ladda upp rådata, det vill säga .fastq-filer från Illumina, där standardvärden (default) användes. Den genotypiska resistensbestämningen av isolat från kycklingkött med AMRFinderPlus 3.10 utfördes genom trimning och assembly (ihopsättning) av rådata via Livsmedelsverkets egenutvecklade pipeline (Östlund, 2019). Korrigerade assemblies genomsöktes för resistensmarkörer med AMRFinderPlus 3.10.

Bearbetning av Illumina rådata från patientisolat utfördes genom Folkhälsomyndighetens egen pipeline Bacttyper 2.0 (<https://git.folkhalsomyndigheten.se>), där CLC Assembly Cell (Qiagen) används för assembly. De assemblade sekvenserna genomsöktes sedan för resistensmarkörer med staramr 0.7.2 och AMRFinderPlus 3.10.

Fenotypisk resistensbestämning

Isolat från kycklingkött

Fenotypisk antibiotikaresistens undersöktes hos ett urval av isolat med en standardiserad mikrodilutionsmetod (CLSI, 2015) på Statens Veterinärmedicinska Anstalt. Urvalet gjordes utefter unik antibiotikaresistensprofil med avseende på markörer för resistens mot kinoloner, makrolider, tetracykliner och aminoglykosider, samt eventuella divergerande resultat mellan ResFinder och AMRFinder.

Lägsta tillväxthämmande koncentration (MIC; mg/L) bestämdes för ciprofloxacin, erytromycin och tetracyklin på Sensititre EUCAMP2- eller EUCAMP3-paneler (Trek diagnostics LTD). Epidemiologiska brytpunkter enligt EUCAST (www.eucast.org) användes för att klassificera isolaten som känsliga eller resistenta isolat baserat på MIC-värdena.

Isolat från patienter

Urvalet av patientisolat gjordes på samma sätt som för isolaten från kycklingkött, med det tillägget att hänsyn även togs för att täcka upp för olika sekvenstyper. Isolaten undersöktes för fenotypisk resistensbestämning vid det nationella referenslaboratoriet för antibiotikaresistens i Växjö (2021). Isolaten testades med en standarpanel för stafylokocker som bland annat innehöll ciprofloxacin, erytromycin och tetracyklin. I panelen görs MIC-bestämning genom mikrodilution. För ciprofloxacin, erytromycin och tetracyklin gjordes även lappdiffusion med MIC-avläsning enligt EUCAST.

Släktskapsanalys

Helgenomsekvenseringsdata användes även för att utföra klusteranalyser där isolaten jämfördes mot varandra för att undersöka släktskap. I ett första steg identifierades sekvenstyp (ST). Därefter gjordes klusteranalyser inom enskilda ST där man identifierar enskilda nukleotidskillnader, så kallade "single

nucleotide polymorphisms” (SNPs). Dessa skillnader illustrerades med hjälp av ”minimum spanning trees” (MSTs). Klusteranalys utfördes där det fanns fem eller fler isolat som tillhörde samma ST (<https://pubmlst.org/organisms/campylobacter-jejuni>) samt innehöll isolat från både kycklingkött och patienter. Isolaten inom en given ST bedömdes tillhöra samma kluster (närbesläktade) om skillnaden mellan isolaten var mindre eller lika med 10 SNPs.

Statistik

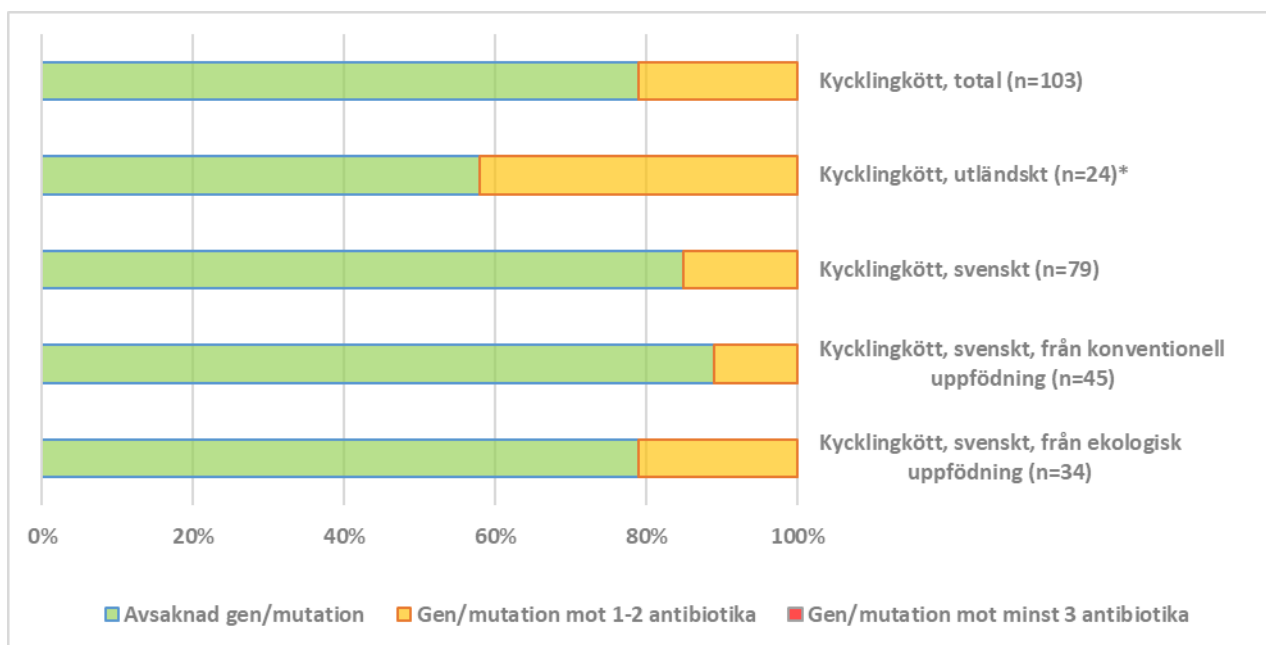
Chi²-test utfördes för att undersöka skillnader i förekomsten av respektive markör för resistens mot kinoloner, makrolider tetracykliner och aminoglykosider i isolat från patienter respektive kycklingkött, utländskt respektive svenskt kycklingkött, samt svenskt kött från konventionellt respektive ekologiskt uppfödd kyckling. Nivån för signifikanta skillnader valdes som $p < 0,05$.

Resultat

Antibiotikaresistens hos campylobacter från kycklingkött

Genotypisk resistens hos *Campylobacter jejuni*

Sammanlagt 81 (79 procent) av de 103 helgenomsekvenserade isolaten av *C. jejuni* från kycklingkött saknade gener eller mutationer för resistens mot kinoloner, makrolider, tetracykliner eller aminoglykosider (figur 1). Inget av isolaten innehöll gener eller mutationer mot tre eller fyra av dessa antibiotikaklasser, det vill säga var genotypiskt multiresistent (figur 1). Inget isolat innehöll gener eller mutationer för resistens mot makrolider, och således inte heller mot både kinoloner och makrolider (tabell 1). Andelen isolat med resistensmarkörer mot någon av dessa antibiotikaklasser varierade från 0 procent för makrolider till 17 procent för kinoloner. Därutöver innehöll 93 procent av isolaten någon gen för betalaktamresistens (tabell 1).



Figur 1. Andelen isolat av *C. jejuni* från kycklingkött som helt saknar gener eller mutationer (grön) för resistens mot kinoloner, makrolider, tetracykliner och aminoglykosider, eller innehåller gener eller mutationer för 1-2 (gul) eller minst 3 (röd) av dessa antibiotikaklasser. *) Danmark (n=9), Lettland (n=8) och Frankrike (n=7), varav ett isolat från konventionellt uppfödd kyckling.

Tabell 1. Antalet insamlade isolat av *C. jejuni* från kycklingkött och antalet isolat, n (%) som innehåller gener eller mutationer för resistens mot utvalda antibiotikaklasser.

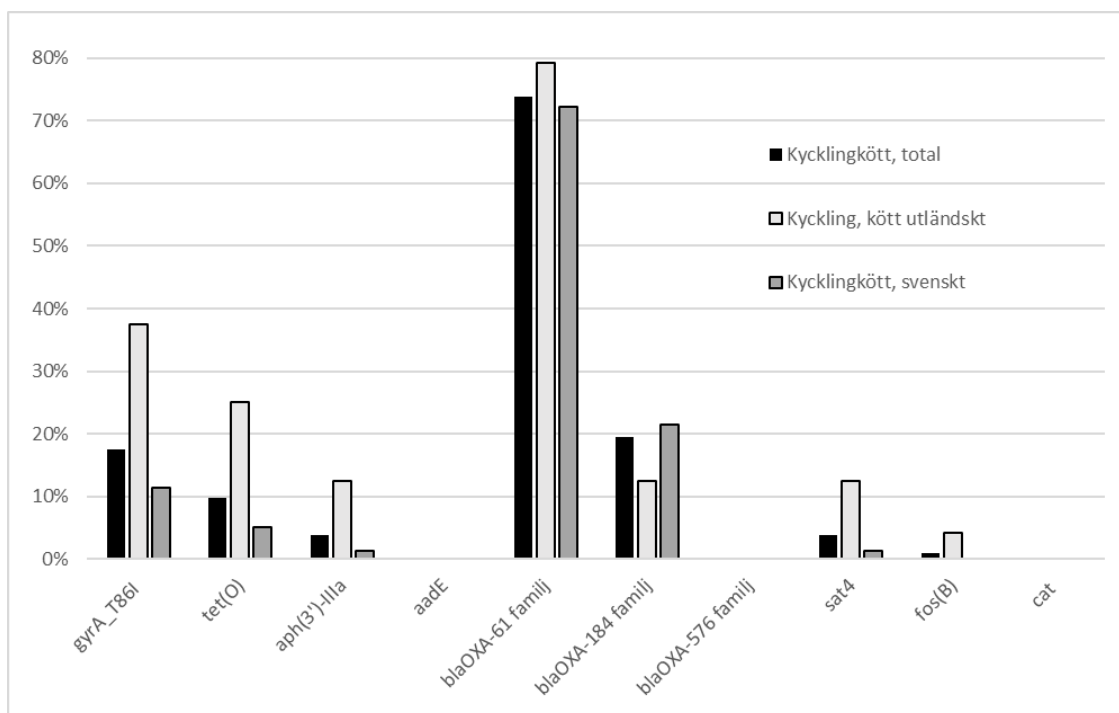
Kategori	Antal isolat	Kinolon n (%)	Makrolid n (%)	Tetracyklin n (%)	Aminoglykosid n (%)	Betalaktam n (%)
Kycklingkött, total	103	18 (17)	0 (0)	10 (10)	4 (4)	96 (93)
Kycklingkött, utländskt	24*	9 (38)	0 (0)	6 (25)	3 (13)	22 (92)
Kycklingkött, svenskt	79	9 (11)	0 (0)	4 (5)	1 (1)	74 (94)
Kycklingkött, svenskt, konventionell uppfödning	45	4 (9)	0 (0)	1 (2)	0 (0)	40 (89)
Kycklingkött, svenskt, ekologisk uppfödning	34	5 (15)	0 (0)	3 (9)	1 (3)	34 (100)

*) Danmark (n=9), Lettland (n=8) och Frankrike (n=7), varav ett isolat från konventionellt uppfödd kyckling

Isolat från svenskt respektive utländskt kycklingkött

Av de 79 isolaten av *C. jejuni* från svenskt kycklingkött saknade 67 (85 procent) gener eller mutationer förknippade med resistens mot kinoloner, makrolider, tetracykliner eller aminoglykosider (figur 1). Totalt 14 (58 procent) av de 24 isolaten från utländskt kött saknade motsvarande resistensmarkörer (figur 1). För kött, oavsett ursprung, var andelen isolat med resistensmarkörer för någon av dessa antibiotikaklasser högst för kinoloner, följt av tetracykliner (tabell 1). En signifikant högre förekomst av resistensmarkörer för kinoloner respektive tetracykliner påvisades hos isolat från utländskt kycklingkött än från svenskt kött. Därutöver påvisades gener för betalaktamresistens hos drygt 90 procent av isolaten av både svenskt och utländskt ursprung (tabell 1).

Samma mutation för kinolonresistens, *gyrA*_T86I, påvisades hos *C. jejuni* från både svenskt och utländskt kycklingkött (figur 2). På motsvarande sätt påvisades generna *tet(O)* och *aph(3')-IIIa* hos isolat från svenskt och utländskt kött med tetracyklin- respektive aminoglykosidresistens (figur 2). De fyra isolaten med *aph(3')-IIIa* innehöll även genen *sat4* för streptotricinresistens. För ett av isolaten från utländskt kycklingkött påvisades även *fos(B)* som är en markör för fosfomycinresistens (figur 2). De bla-gener för betalaktamresistens som påvisades tillhörde familjerna OXA-61 och OXA-184, varav OXA-61 var vanligast hos isolat från både svenskt och utländskt kött. Bla-gener tillhörande familj OXA-61 var också den vanligaste resistensmarkören totalt sett oavsett köttets ursprung (figur 2).

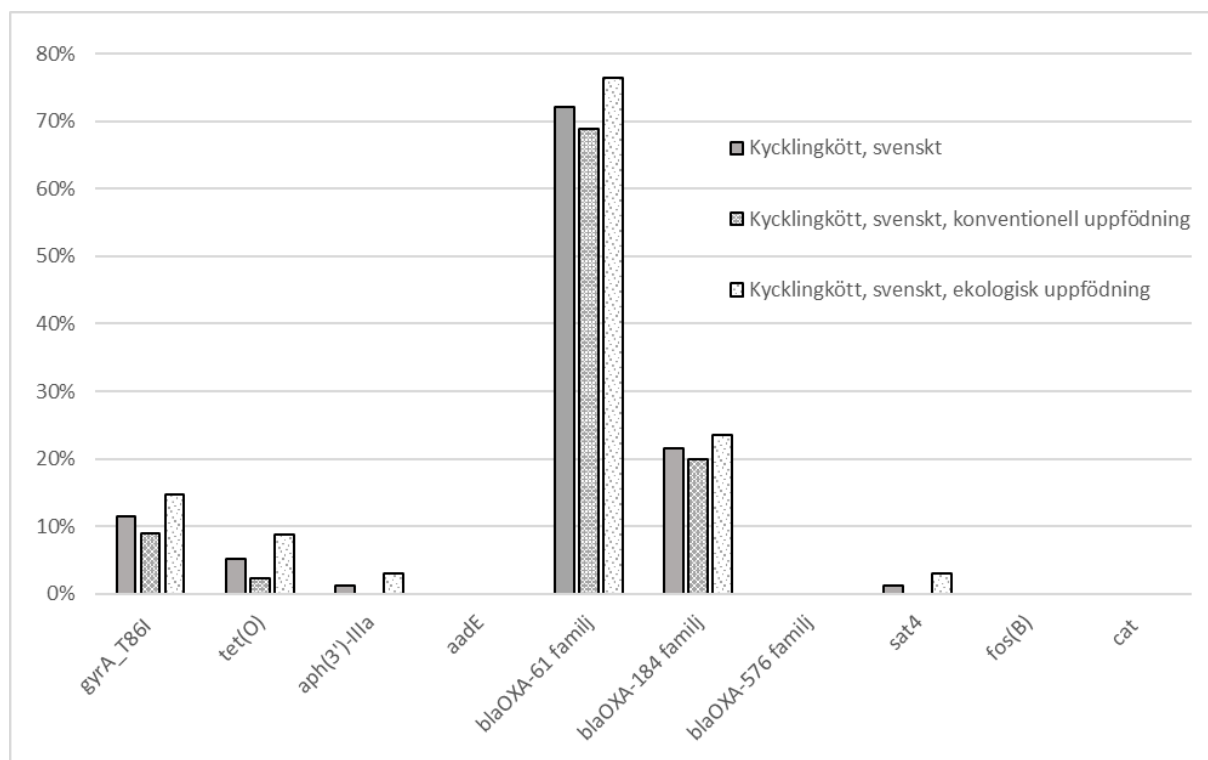


Figur 2. Fördelning av resistensgener och resistensassocierade mutationer som påvisats hos *C. jejuni* från kött på den svenska marknaden (n=103), varav svenskt (n=79) och utländskt (Danmark (n=9), Lettland (n=8) och Frankrike (n=7)).

Isolat från svenskt kött från konventionellt respektive ekologiskt uppfödd kyckling

För *C. jejuni* från svensk, konventionellt uppfödd kyckling saknade 40 (89 procent) av 45 isolat gener eller mutationer för resistens mot kinoloner, makrolider, tetracykliner eller aminoglykosider (figur 1). För de 34 isolaten från ekologiskt svenskt kött saknade 27 (79 procent) sådana resistensmarkörer (figur 1). Andelen isolat från konventionellt uppfödd kyckling med mutationer eller gener för resistens mot någon av dessa antibiotikaklasser samt betalaktamer varierade mellan 0 procent för makrolider och aminoglykosider till 89 procent för betalaktamer (tabell 1). Förekomsten av sådana resistensmarkörer hos isolaten från ekologiskt kycklingkött varierade från 0 procent för makrolider till 100 procent för betalaktamer (tabell 1). Förekomsten av de resistensmarkörer som påvisades för kinoloner respektive tetracykliner var högre hos isolaten från ekologiskt kött än från kött från konventionell uppfödning, men skillnaden var inte statistiskt signifikant.

Mutationen *gyrA_T86I* för kinolonresistens samt tetracyklinresistensgenen *tet(O)* och betalaktamresistensgenerna *bla* tillhörande familjerna OXA-61 respektive OXA-184 återfanns hos isolat från svenskt kött av både konventionellt och ekologiskt uppfödd kyckling (figur 3). För ett av isolaten från ekologiskt kött påvisades även generna *aph(3')-IIIa* och *sat4* förknippade med resistens mot aminoglykosider respektive streptomycin (figur 3).



Figur 3. Fördelning av resistensgener och resistensassocierade mutationer som påvisats hos *C. jejuni* från svenskt kött (n=79), varav från konventionellt (n=45) respektive ekologiskt uppfödd kyckling (n=34).

Genotypisk resistens hos *Campylobacter coli* och *Campylobacter lari*

Tre av totalt sju isolat av *C. coli* saknade helt gener eller mutationer som ger resistens mot kinoloner, makrolider, tetracykliner eller aminoglykosider. Inget av isolaten innehöll gener eller mutationer mot tre eller fler av dessa antibiotika, det vill säga var genotypiskt multiresistenta och inget isolat innehöll mutationer för resistens mot både kinoloner och makrolider. De resistensmarkörer som påvisades hos isolaten av *C. coli* var *gyrA_T86I* för kinolonresistens (n=2), *tet(O)* för tetracyklinresistens (n=3) och *aadE-Cc* för aminoglykosidresistens (n=1). Därutöver påvisades *bla*-gener tillhörande familjen OXA-61 för betalaktamresistens (n=4).

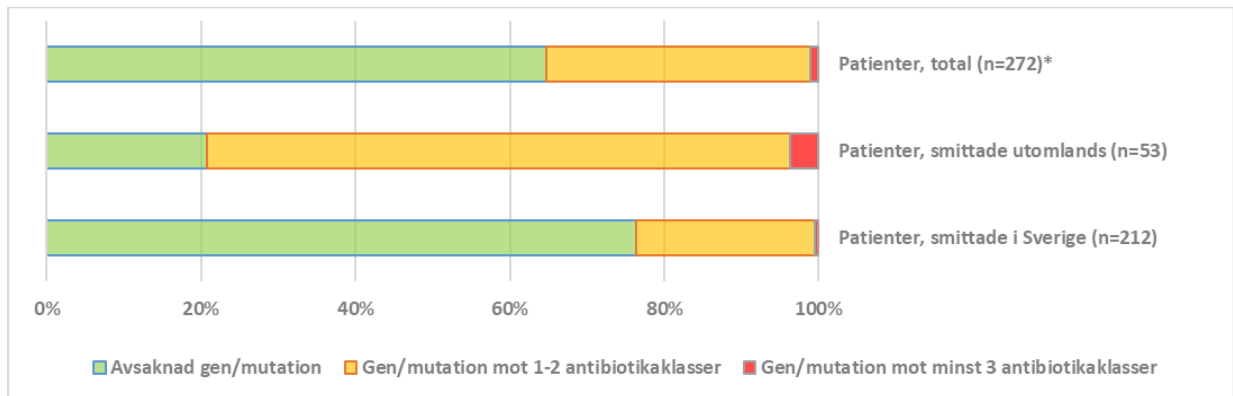
Det *C. lari*-isolat som ingick i undersökningen innehöll en mutation för kinolonresistens, *gyrA_T86V* och en betalaktamresistensgen tillhörande familjen OXA-493.

Antibiotikaresistens hos *campylobacter* från patienter

Genotypisk resistens hos *C. jejuni*

Sammanlagt 176 (65 procent) av de 272 isolaten av *C. jejuni* från patienter saknade gener eller mutationer för resistens mot kinoloner, makrolider, tetracykliner eller aminoglykosider (figur 4). Tre av isolaten innehöll resistensmarkörer för kinoloner, tetracykliner och aminoglykosider, det vill säga var genotypiskt multiresistenta (figur 4). Däremot innehöll inget isolat gener eller mutationer för resistens mot makrolider, och således inte heller mot både kinoloner och makrolider (tabell 2).

Andelen isolat med resistensmarkörer mot någon av dessa fyra undersökta antibiotikaklasser varierade från 0 procent för makrolider till 33 procent för kinoloner. Därutöver innehöll 80 procent av isolaten någon gen för betalaktamresistens (tabell 2).



Figur 4. Andelen isolat av *C. jejuni* från patienter undersökta i Sverige, som helt saknar gener eller mutationer (grön) för resistens mot kinoloner, makrolider, tetracykliner och aminoglykosider, eller innehåller gener eller mutationer för 1-2 (gul) eller minst 3 (röd) av dessa antibiotikaklasser. *) Inklusive 7 isolat med okänt smittland.

Tabell 2. Antalet insamlade isolat av *C. jejuni* från patienter och antalet isolat, n (%) som innehåller gener eller mutationer för resistens mot utvalda antibiotikaklasser.

Kategori	Antal isolat	Kinolon n (%)	Makrolid n (%)	Tetracyklin n (%)	Aminoglykosid n (%)	Betalaktam n (%)
Patienter, total	272	91 (33)	0 (0)	51 (19)	5 (2)	218 (80)
Patienter, smittade utomlands	53	40 (75)	0 (0)	27 (51)	3 (6)	42 (79)
Patienter, smittade i Sverige	212	47 (22)	0 (0)	21 (10)	2 (1)	170 (80)
Patienter, okänt smittland	7	4 (57)	0 (0)	3 (43)	0 (0)	6 (86)

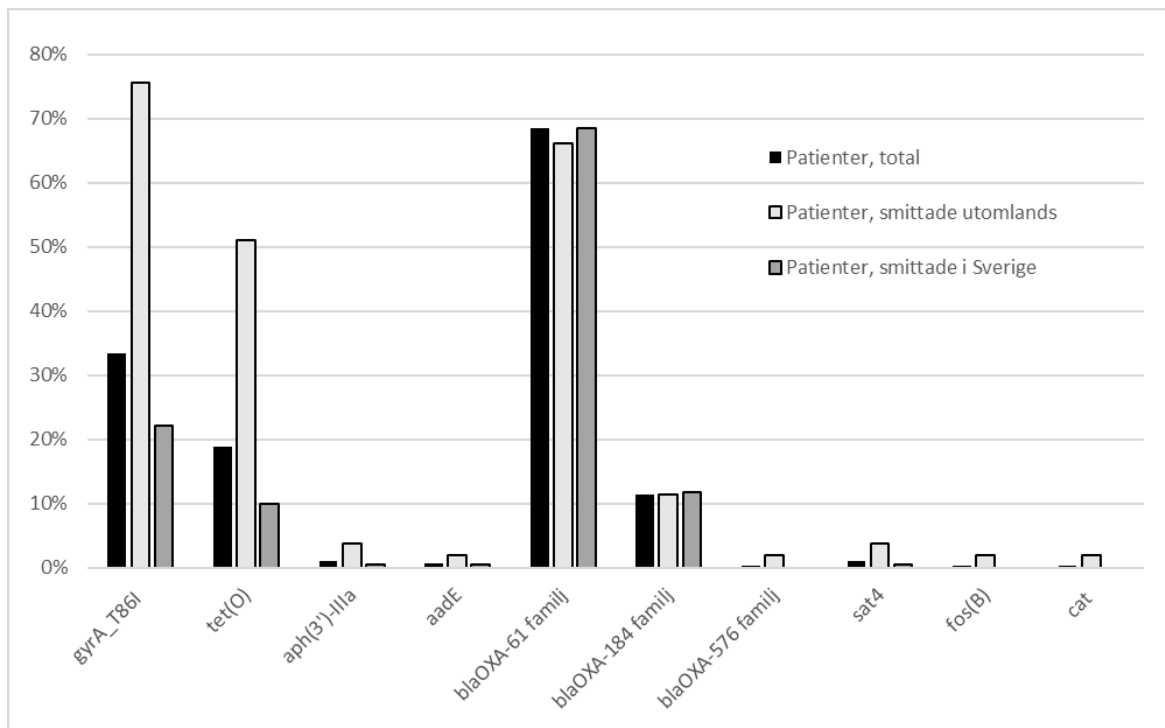
Isolat från smittade i Sverige respektive utlandssmittade

För *C. jejuni* från patienter som smittats i Sverige var det 162 (76 procent) av 212 isolat som helt saknade gener eller mutationer förknippade med resistens mot kinoloner, makrolider, tetracykliner eller aminoglykosider (figur 4). Sammanlagt 11 (21 procent) av de 53 isolaten från utlandssmittade patienter saknade motsvarande resistensmarkörer (figur 4). För båda kategorier av patienter var andelen isolat med resistensmarkörer för någon av dessa antibiotikaklasser högst för kinoloner, följt av tetracykliner (tabell 2). Högst överlag var andelen isolat med gener för betalaktamresistens, cirka 80 procent hos isolat från både inhemskt smittade och utlandssmittade patienter (tabell 2). En signifikant högre förekomst av resistensmarkörer för kinoloner respektive tetracykliner påvisades hos isolat från patienter smittade utomlands än patienter smittade i Sverige.

Mutationen *gyrA_T86I* var den enda markör som påvisades för kinolonresistens bland patientisolen oavsett smittland (figur 5). På motsvarande sätt påvisades genen *tet(O)* hos de patientisolen som var genotypiskt tetracyklinresistenta, medan båda markörerna *aph(3')-IIIa* och *aadE* påvisades hos isolat med genotypisk aminoglykosidresistens (figur 5). Tre isolat med *aph(3')-IIIa* innehöll även genen *sat4* för streptotricinresistens (figur 5). Av de tre isolat som var genotypiskt multiresistenta innehöll ett isolat

kopplat till smitta i Sverige *gyrA_T86I*, *tet(O)*, *aph(3')*-IIIa, medan två isolat som härrörde från utlandssmita innehöll *gyrA_T86I*, *tet(O)*, *aph(3')*-IIIa respektive *gyrA_T86I*, *tet(O)*, *aadE*.

De resistensmarkörer som påvisades för betalaktamresistens var gener inom gruppen *blaOXA* (figur 5). Den vanligaste markören oavsett kategori av patientisolat var gener tillhörande *blaOXA*-61-familjen, följt av gener tillhörande *blaOXA*-184-familjen. Ett isolat som härrörde från utlandssmita innehöll en *bla*-gen inom *blaOXA*-576. För två av isolaten från utlandssmittade patienter påvisades även *fos(B)*, som är en markör för fosfomycinresistens respektive *cat*, som är en markör för kloramfenikolresistens (figur 5).



Figur 5. Fördelning av resistensgener och resistensassocierade mutationer som påvisats hos *C. jejuni* från patienter i Sverige (n=272), varav inhemskt smittade patienter (n=212), utlandssmittade patienter (n=53) och okänt smittland (n=7).

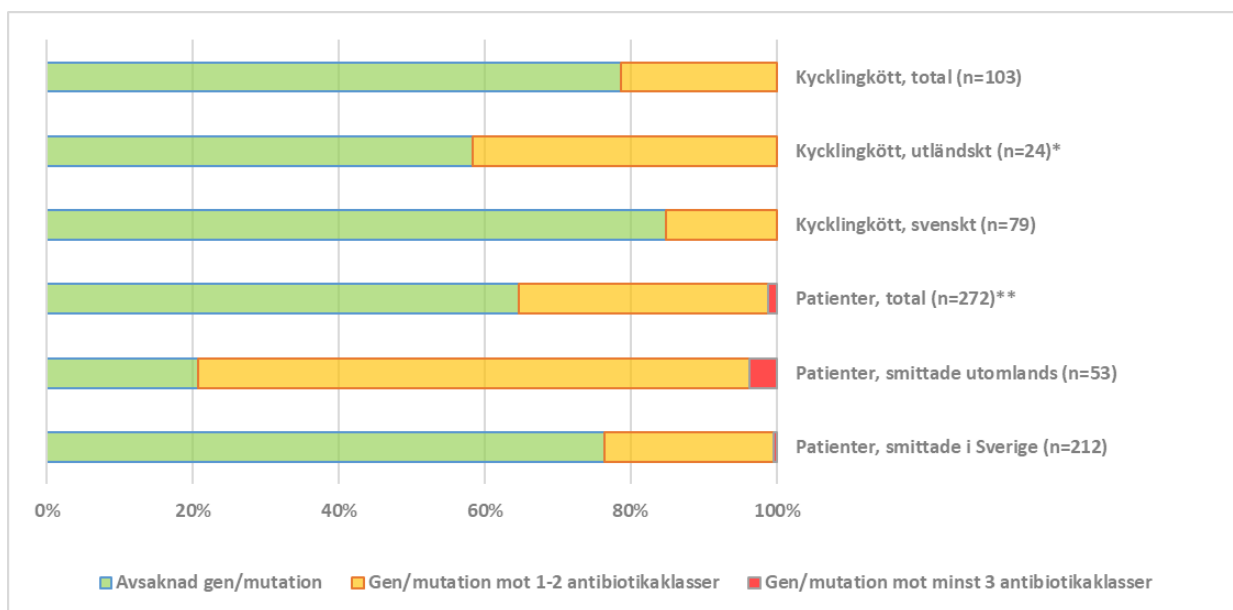
Genotypisk resistens hos *C. coli*

Tre av de tolv *C. coli*-isolaten från patienter saknade helt gener eller mutationer för resistens mot kinoloner, makrolider, tetracykliner eller aminoglykosider. Inget av isolaten innehöll gener eller mutationer mot tre eller fler av dessa antibiotika, det vill säga var genotypiskt multiresistenta och inget isolat innehöll mutationer för resistens mot både kinoloner och makrolider. De av dessa resistensmarkörer som påvisades hos isolaten var *gyrA_T86I* för kinolonresistens (n=9), *tet(O)* för tetracyklinresistens (n=4) och *aadE*-Cc för aminoglykosidresistens (n=1). Även hos *C. coli* var markörer för betalaktamresistens vanligast förekommande, där tio av tolv isolat bar på *bla*-gener tillhörande familjen OXA-61.

Jämförelse mellan resistent campylobacter från kycklingkött och från patienter

Jämförelse av resistensmarkörer

Andelen isolat av *C. jejuni* som helt saknade gener eller mutationer för resistens mot kinoloner, makrolider, tetracykliner eller aminoglykosider varierade mellan 21 procent för patienter som smittats utomlands till 85 procent för svenskt kycklingkött (figur 6). Motsvarande andel var i storleksordningen knappa 80 procent för kycklingkött totalt och patienter som smittats i Sverige. Enstaka isolat från patienter innehöll resistensmarkörer för tre eller fyra av dessa antibiotikaklasser, medan inget isolat från kycklingkött innehöll sådan genotypisk multiresistens (figur 6).



Figur 6. Andelen isolat av *C. jejuni* från kycklingkött respektive patienter som helt saknar gener eller mutationer (grön) för resistens mot kinoloner, makrolider, tetracykliner och aminoglykosider, eller innehåller gener eller mutationer för 1-2 (gul) eller minst 3 (röd) av dessa antibiotikaklasser. *) Danmark (n=9), Lettland (n=8) och Frankrike (n=7); **) Inklusive 7 isolat med okänt smittland.

Samma typer av resistensmarkörer för kinoloner, tetracykliner och aminoglykosider återfanns hos isolat från både kycklingkött och patienter, undantaget aminoglykosidgenen *aadE* som hittades hos enstaka isolat från patienter men inte på kött (tabell 3). Den vanligaste resistensmarkören för dessa respektive antibiotikaklasser var kinolonmutationen *gyrA_T86I*, där 17 procent av isolaten från kycklingkött och 33 procent av isolaten från patienter var positiva, följt av resistensgenen *tet(O)* (kycklingkött 10 procent, patienter 19 procent) (tabell 3). Den vanligast förekommande resistensmarkören överlag var bla-gener tillhörande OXA-61-familjen (kycklingkött 74 procent, patienter 68 procent) (tabell 3).

Andelen isolat med kinolonmarkören *gyrA_T86I* respektive tetracyklinmarkören *tet(O)* var högst för utlandssmittade patienter följt av utländskt kycklingkött och lägst för svenskt kött (tabell 3). Andelen isolat med dessa båda respektive resistensmarkörer var signifikant högre för utlandssmittade patienter jämfört med svenskt respektive utländskt kycklingkött, liksom för utlandssmittade patienter jämfört med patienter som smittats i Sverige. Andelen isolat med betalaktamgener tillhörande någon OXA-familj varierade totalt

sett mellan 66 och 79 procent för OXA-61 och mellan 11 och 22 procent för OXA-184. En betalaktamgen tillhörande OXA-576 och en resistensmarkör för kloramfenikol påvisades enbart hos ett isolat vardera från patienter som smittats utomlands och en resistensmarkör för fosfomycin återfanns enbart hos ett isolat från utlandssmittad och ett från utländskt kött (tabell 3).

Tabell 3. Andelen och antalet C. jejuni som innehåller viss resistensmarkör för olika provkategorier av kycklingkött respektive patienter.

Antibiotikaklass	Resistensmarkör	Kycklingkött, total (n=103)	Kycklingkött, utländskt (n=24)	Kycklingkött, svenskt (n=79)	Patienter, total (=272)*	Patienter smittade utomlands (n=53)	Patienter smittade i Sverige (n=212)
		% (n)	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)
Kinolon	gyrA_T86I	17 (18)	38 (9)	11 (9)	33 (91)	75 (40)	22 (47)
Tetracyklin	tet(O)	10 (10)	25 (6)	5 (4)	19 (51)	51 (27)	10 (21)
Aminoglykosid	aph(3')-IIIa	4 (4)	13 (3)	1 (1)	1 (3)	4 (2)	<1 (1)
Aminoglykosid	aadE	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (2)	2 (1)	<1 (1)
Betalaktam	blaOXA-61 familj	74 (76)	79 (19)	72 (57)	68 (186)	66 (35)	68 (145)
Betalaktam	blaOXA-184 familj	19 (20)	13 (3)	22 (17)	11 (31)	11 (6)	12 (25)
Betalaktam	blaOXA-576 familj	0 (0)	0 (0)	0 (0)	<1 (1)	2 (1)	0 (0)
Streptothricin	sat4	4 (4)	13 (3)	1 (1)	1 (3)	4 (2)	<1 (1)
Fosfomycin	fos(B)	1 (1)	0,5 (1)	0 (0)	<1 (1)	2 (1)	0 (0)
Kloramfenikol	cat	0 (0)	0 (0)	0 (0)	<1 (1)	2 (1)	0 (0)

*) Inklusive 7 isolat med okänt smittland

Släktskap och koppling till resistensmarkörer

Totalt påvisades 87 olika sekvenstyper (STs) hos de 375 isolaten av C. jejuni från kycklingkött och patienter, varav 11 STs påvisades enbart hos isolat från kycklingkött, 56 STs påvisades enbart hos isolat från patienter och 20 STs återfanns hos isolat från både kycklingkött och patienter. Rapporten fokuserar på fem STs, vilka tillsammans utgjorde knappt 40 procent av alla isolat. Den vanligast förekommande ST-varianten var **ST257** med 13 köttisolat och 45 patientisolat (figur 7a). Majoriteten av patient- och köttisolat av ST257 återfanns i tre större kluster där den enda resistensmarkör som kunde identifieras var genvarianter inom blaOXA-61 familjen, alternativt saknade isolaten helt resistensmarkörer. Alla patientisolat inom dessa kluster kom från personer med rapporterad inhemsk smitta och köttisolaten härrörde från konventionellt svenskproducerat kycklingkött. Två av patientisolaten inom denna ST avvek kraftigt släktskapsmässigt jämfört med övriga isolat. Dessa bar på resistensmarkörerna gyrA_T86I och tet(O) och båda isolaten härrörde från patienter med rapporterad utlandssmitta (Nordafrika). Ett av isolaten från svenskt kött bar också på gyrA_T86I och detta isolat var närbesläktat med ett patientisolat med okänt smittland som också bar på gyrA_T86I.

Den näst vanligaste förekommande ST-varianten var **ST45** med 27 köttisolat och 19 patientisolat (ej visade data). Alla isolat utom två från kycklingkött hade svenskkoppling. Den enda resistensmarkören som påträffades inom denna ST var genvarianter inom blaOXA-gruppen där majoriteten bar på gener tillhörande blaOXA-61 familjen, förutom ett isolat som bar på blaOXA-184 och tre isolat som var negativa

för blaOXA. Inom denna ST identifierades fem mindre kluster à två till fyra isolat med representanter från både patient- och kycklingisolat, alla med svenskkoppling.

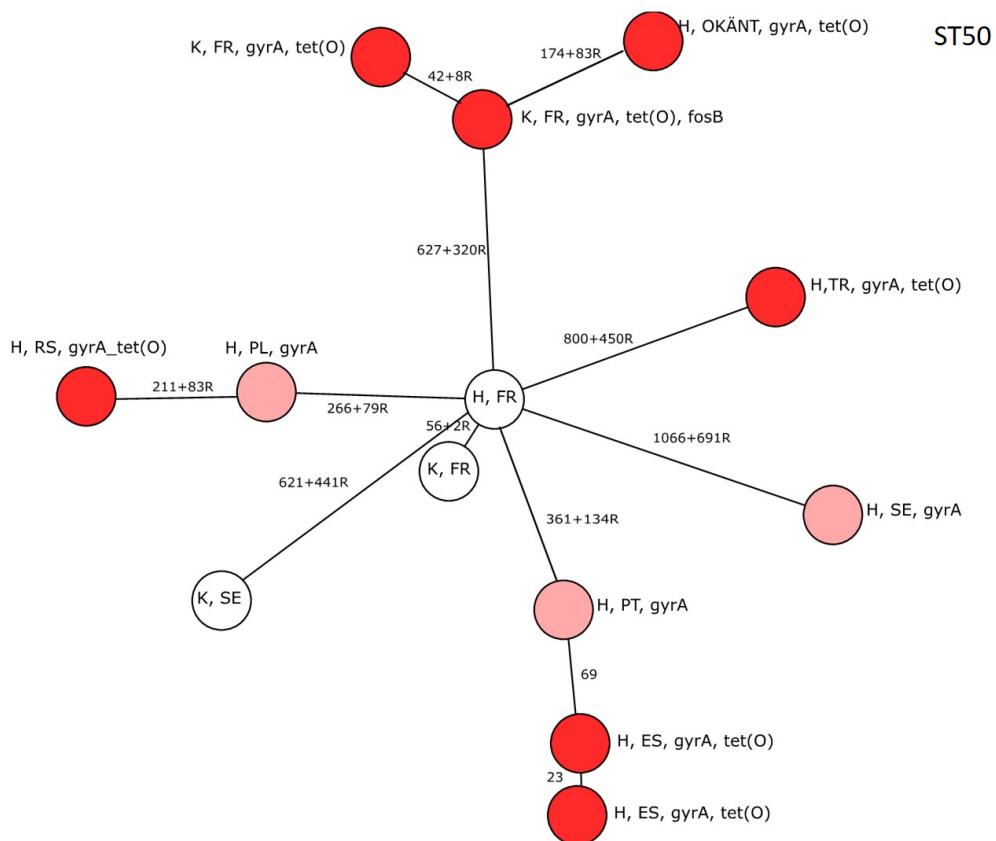
Inom **ST50** var de flesta isolat från patienter som rapporterats smittade utomlands respektive isolat från utländskt kycklingkött (figur 7b). För sekvenstypen identifierades inga specifika kluster av isolat. Majoriteten, 10 av 13 isolat, bar på markörer för resistens mot kinoloner och tetracykliner, eller enbart kinoloner. Alla isolat oberoende av ursprung/smittland var positiva för gener tillhörande blaOXA-61 familjen.

Inom **ST19** återfanns totalt 4 köttisolat och 14 patientisolat (figur 7c). Fyra av isolaten med gyrA_T86I avvek släktskapsmässigt från resterande isolat, varav två från patienter som rapporterats som smittade utomlands och ett isolat från utländskt kött. Ytterligare fem patientisolat och ett köttisolat hade gyrA_T86I-markören och dessa sex isolat var kopplade släktskapsmässigt och av svenskt ursprung. Av de resterande isolaten inom denna ST bar alla utom ett på blaOXA-61-varianter men saknade i övrigt resistensmarkörer.

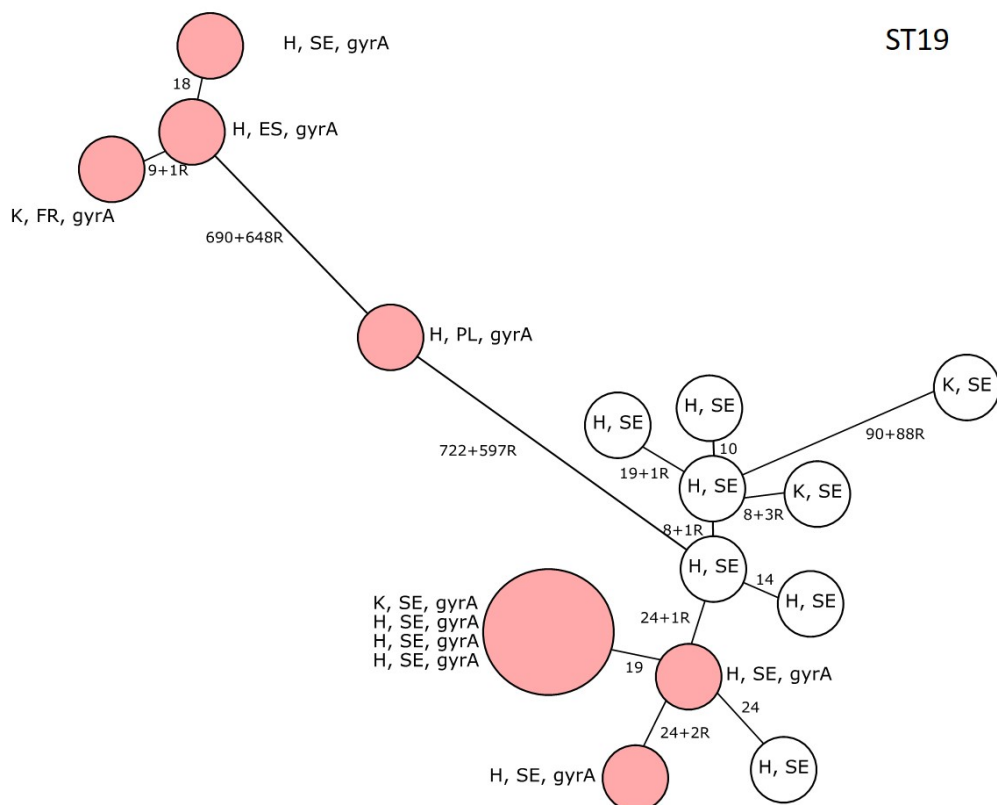
Totalt nio isolat, två från kycklingkött och sju från patienter, identifierades tillhöra **ST148** (figur 7d). Alla utom ett isolat visade på en tydlig släktskapsmässig koppling och bar på gyrA_T86I, samt var från personer som rapporterats smittade i Sverige eller var från svenskproducerat kycklingkött. Det isolat som avvek släktskapsmässigt saknade gyrA och härrörde från en patient med rapporterad utlandssmitta (Spanien).

Figur 7. Klusteranalys av isolat från kycklingkött och patienter, visualiserat med hjälp av minimum spanning trees (MSTs) som visar på skillnader i antal SNPs inom fyra olika STs; a) 257, b) 50, c) 19 och d) 148. För respektive isolat indikeras följande metadata; H=humanisolat, K=kycklingköttisolat, SE, ES osv = landskoder gällande ursprung eller rapporterat smittland, samt genetisk resistensmarkör (gyrA=markör för kinolonresistens, tet(O)=markör för tetracyklinresistens, fosB=markör för fosfomycinresistens). Färgkodning: vitt= avsaknad av markörer för resistens mot kinoloner, makrolider, tetracykliner eller aminoglykosider; rosa= innehåll av en sådan resistensmarkör, rött= innehåll av två eller fler sådana resistensmarkörer. Ej medtaget såsom resistensmarkör är blaOXA-generna. Längden på grenarna är inte proportionerlig till det evolutionära avståndet, beräknat i antal SNPs, mellan isolaten.

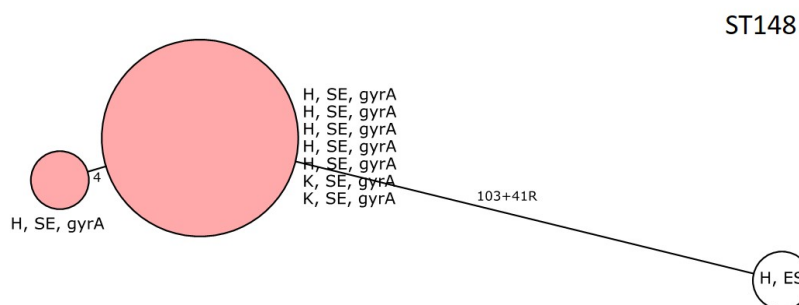
b)



c)



d)



Jämförelser av databaser för bioinformatisk resistensbestämning

För att jämföra förmåga hos databaserna för ResFinder 4.1/staramr 0.7.2 och AMRFinderPlus 3.10 att detektera resistensmarkörer undersöktes totalt 165 isolat (151 *C. jejuni*, 13 *C. coli*, 1 *C. lari*) från kycklingkött och 54 isolat (48 *C. jejuni* och 6 *C. coli*) från patienter.

För sex resistensmarkörer skiljde sig resultaten mellan ResFinder/staramr och AMRFinder (tabell 4). Två resistensmarkörer detekterades enbart med AMRFinder; 50S ribosomalt protein L22_A103V (makrolidresistens) och sat4 (streptotricinresistens), där dock markören 50S ribosomalt protein L22_A103V har blivit borttagen i ResFinder-databasen och inte heller sat4 ingår. AMRFinder detekterade resistensmarkörer i fler isolat än ResFinder/staramr även för genen *aph(3')-IIIa* och för mutationen *gyrA*,

medan i ResFinder detekterades något fler isolat med tet(O). För resterande isolat och resistensmarkörer överensstämde resultaten mellan ResFinder/staramr och AMRFinder (tabell 4).

Tabell 4. Antalet och andelen isolat av campylobacter innehållande resistensmarkörer som detekterats med AMRFinder 3.10 respektive ResFinder 4.1/staramr 0.7.2. Fet stil markerar de resistensmarkörer där resultaten skiljer sig mellan programvarorna.

Antibiotikaklass	Resistensmarkör	AMRFinderPlus 3.10 (%)	ResFinder 4.1/staramr 0.7.2 (%)	Totalt antal isolat
Aminoglykosider	aph(3')-IIIa	6 (100)	4 (67)	6
	aadE/ant(6)-Ia ¹	2 (100)	2 (100)	2
	aadE-Cc	1 (100)	1 (100)	1
	rpsL_K43R	1 (100)	1 (100)	1
Makrolider	50S ribosomal protein L22_A103V	9 (100)	0 (0)	9
Tetracykliner	tet(O)	34 (94)	36 (100)	36
Kinolon	gyrA_T86I	58 (100)	50 (86)	58
	gyrA_T86V	1 (100)	0 (0)	1
	gyrA_D90N	1 (100)	1 (100)	1
	bla _{OXA-61} familj	117 (100)	117 (100)	117
Betalaktamer	bla _{OXA-184} familj	29 (100)	29 (100)	29
	bla _{OXA-493} familj	1 (100)	1 (100)	1
Streptothricin	sat4	6 (100)	0 (0)	6
Fosfomycin	fosB	1 (100)	1 (100)	1

¹ AMRFinder aadE/ResFinder ant(6)-Ia

Överensstämmelse mellan genotypisk och fenotypisk resistensdata

Den fenotypiska resistensbestämningen utfördes på 78 isolat av campylobacter, varav 24 från kycklingkött (18 *C. jejuni*, 5 *C. coli*, 1 *C. lari*) och 54 från patienter (48 *C. jejuni* och 6 *C. coli*). Resultaten från den fenotypiska resistensbestämningen jämfördes med resultat från genotypisk resistensbestämning utförd med AMRFinderPlus 3.10 och ResFinder 4.1/staramr 0.7.2 och deras två respektive databaser (tabell 5 och 6).

AMRFinder uppvisade betydligt högre sensitivitet för ciprofloxacin jämfört med ResFinder/staramr, medan för tetracyklin var sensitiviteten något lägre med AMRFinder jämfört med ResFinder/staramr. För tetracyklin var sensitiviteten för båda verktygen mindre än 95 procent. Specificiteten var lika för AMRFinder och ResFinder/staramr för både tetracyklin och ciprofloxacin. Inget av isolaten med genotypisk resistens för erytromycin (50S_L22_A103V) enligt AMRFinder gav fenotypisk resistens (tabell 5).

Tabell 5. Överensstämmelse mellan den genotypiska och fenotypiska resistensbestämningen med AMRFinderPlus 3.10.

Antibiotikaklass	Fenotyp resistent		Fenotyp känslig		Sensitivitet (%)	Specificitet (%)
	Antal resistent WGS	Antal känslig WGS	Antal resistent WGS	Antal känslig WGS		
Tetracyklin	31	5	1	41	86,1	97,6
	tetO (n=31)	-	tetO (n=1)	-		
Ciprofloxacin	54	0	1	23	100,0	95,8
	gyrA_T86I (n=52), gyrA_T86V (n=1), gyrA_T86I + gyrA_D90N (n=1)	-	gyrA_T86I	-		
Erytromycin	0	0	29	49	N/A	62,8
	-	-	50S_L22_A10 3V ej funktionell gen	-		

*N/A = ej tillämplig

Tabell 6. Överensstämmelse mellan den genotypiska och fenotypiska resistensbestämningen med ResFinder 4.1/staramr 0.7.2.

Antibiotikaklass	Fenotyp resistent		Fenotyp känslig		Sensitivitet (%)	Specificitet (%)
	Antal resistent WGS	Antal känslig WGS	Antal resistent WGS	Antal känslig WGS		
Tetracyklin	33	3	1	41	91,7	97,6
	tetO	-	tetO	-		
Ciprofloxacin	46	8	1	23	85,2	95,8
	gyrA_T86I (n=45, gyrA_T86I + gyrA_D90N (n=1)		gyrA_T86I			
Erytromycin	0	0	0	0	N/A	N/A

*N/A = ej tillämplig

Baserat på resultaten av jämförelsen mellan ResFinder 4.1/staramr 0.7.2 och AMRFinderPlus 3.10 samt mellan genotypisk och fenotypisk resistensbestämning så valdes AMRFinder att användas för redovisningen av resultaten för resistensmarkörer. Mutationen 50S ribosomalt protein L22_A103V inkluderades inte, då tidigare vetenskapliga publikationer har indikerat en osäkerhet huruvida mutationen faktiskt ger fenotypisk makrolidresistens, åtminstone som ensam resistensmarkör för makrolider (Dahl et al., 2021, Hull et al., 2021). Att denna mutation ej verkar ge fenotypisk resistens mot makrolider bekräftades också i denna undersökning (tabell 5).

Diskussion

Jämförelse av resistensmarkörer hos *C. jejuni* från kycklingkött och från patienter

Verksamma antibiotika – makrolider, fluorokinoloner, tetracykliner och aminoglykosider (Kaakoush et al., 2015, RAF, 2019, ECDC, 2016) – behövs för att kunna behandla svåra och långvariga campylobacterinfektioner även i framtiden, exempelvis infektioner som orsakar sepsis. Inga isolat av *C. jejuni* från varken kycklingkött eller patienter innehöll gener eller mutationer för resistens mot makrolider, vilka numera är förstahandsval i Sverige för sådana infektioner (RAF, 2019). För fluorokinoloner och tetracykliner var andelen isolat som helt saknade resistensmarkörer för dessa antibiotikaklasser högre för svenskt kycklingkött och patienter som smittats i Sverige jämfört med utländskt kött och patienter med trolig utlandssmitta. Även om samma typer av resistensmarkörer för kinoloner (*gyrA_T86I*) och tetracykliner (*tet(O)*) återfanns hos isolat från både kycklingkött och patienter, oavsett ursprung respektive var man smittats, så var dessa markörer klart vanligast förekommande hos isolat från patienter med trolig utomlandssmitta, följt av isolat från utländskt kött. Värt att notera är också att multiresistens (resistens mot minst tre antibiotikaklasser) återfanns enbart hos tre isolat från patienter. Dessutom identifierades vissa specifika resistensmarkörer som t.ex. *cat* för kloramfenikolresistens enbart hos patientisolaten. Fyndet med relativt högre antibiotikaresistens hos *C. jejuni* från kött och patienter med utlandskoppling kan vara en återspeglning av den generellt lägre användningen av antibiotika till människor och livsmedelsproducerande djur i Sverige i förhållande till andra länder (EMA, 2020, ECDC, 2020).

Utöver resistens mot fluorokinoloner och tetracykliner identifierades också fåtal isolat med aminoglykosidresistens inklusive streptotricinresistens hos både köttisolat och patientisolat, kopplat till *aph(3')*-IIIa respektive *sat4*. Dessa gener har även hittats tidigare hos olika *Campylobacter* spp., då ofta i form av en tripplett av gener *aadE/ant(6)-Ia-sat4-aph(3')*-IIIa (Rivera-Mendoza et al., 2020). Genen *aadE/ant(6)-Ia* som också kodar för aminoglykosidresistens hittades i två patientisolat, men kunde dock inte identifieras i samma isolat som *aph(3')*-IIIa och *sat4*.

Den överlag vanligaste resistenstypen hos isolat från både kycklingkött och patienter var betalaktamgener tillhörande någon genfamilj av *blaOXA* och totalt sett innehöll 93 respektive 80 procent av isolaten någon sådan genvariant. Den utbredda förekomsten av *blaOXA*-generna som rapporteras här, liksom tidigare av andra (Rivera-Mendoza et al., 2020, Hull et al., 2021), förklarar varför betalaktam-antibiotika inte rekommenderas för att behandla campylobacterinfektioner eller ingår normalt i den rutinmässiga resistensövervakningen av *Campylobacter* spp. (EU-kommissionens genomförandebeslut 2020/1729; Ocejo et al., 2021, ECDC, 2016).

Resistensmarkörer hos *C. jejuni* från kycklingkött

Undantaget *blaOXA*-gener så var *gyrA_T86I* och *tet(O)* de vanligast förekommande resistensmarkörerna hos *C. jejuni* från svenskt och utländskt kycklingkött, vilket är i paritet med andra studier som undersökt antibiotikaresistens hos *C. jejuni* med helgenomsekvensering (Hull et al., 2021, Dahl et al., 2021, Rivera-Mendoza et al., 2020, Brehony et al., 2021). Även om samma typer av resistensmarkörer återfanns hos *C. jejuni* från kycklingkött, oavsett ursprung, så var andelen isolat med markörer för resistens mot kliniskt

relevanta antibiotikaklasser som väntat lägre hos *C. jejuni* från svenskt kött än från utländskt kött. Totalt var 85 procent av de undersökta isolaten av svenskt ursprung helt utan innehåll av resistensmarkörer mot makrolider, kinoloner, tetracykliner eller aminoglykosider, medan 11 procent innehöll markör för kinolonresistens (*gyrA_T86I*), 5 procent innehöll markör för tetracyklinresistens (*tet(O)*) och 1 procent innehöll markör för aminoglykosidresistens (*aph(3')-IIIa*). Detta kan grovt jämföras mot resultaten för fenotypisk resistens hos 170 isolat av *C. jejuni* från tarminnehåll från svensk slaktkyckling från 2018 års undersökningar inom Svarm där 75 procent av isolaten var känsliga för motsvarande antibiotika, medan 24 procent var resistenta mot kinoloner, 2 procent var resistenta mot tetracykliner och knappt 1 procent var resistenta mot aminoglykosider (SVA och Folkhälsomyndigheten, 2018). Inga fynd förknippat med resistens mot makrolider gjordes i den undersökningen, i likhet med denna, vilket är positivt då det är det viktigaste antibiotikapreparatet för att behandla infektioner med *campylobacter* hos människor (RAF, 2019). Den senaste gången som *C. jejuni* från kycklingkött resistensbestämde inom Svarm var 2013. I den undersökningen, som enbart använde fenotypisk resistensbestämning, var knappt 2 procent av de 111 undersökta isolaten från svenskt kött fenotypiskt resistenta mot makrolider (SVA och Folkhälsomyndigheten, 2013).

I en studie som, baserat på amerikanska resistensövervakningsdata (Narms), undersökt samband mellan köttproduktionsmetoder och resistenta bakterier på kött av olika djurslag så förekom resistenta *campylobacter* i lägre grad på ekologiskt producerat kött jämfört med kött från konventionell uppfödning (Innes et al., 2021). Data om eventuella skillnader avseende antibiotikaresistens hos *campylobacter* från ekologiskt kycklingkött respektive kött från konventionell uppfödning är i övrigt bristfälliga och svenska data har saknats helt (SLU, 2021). Sådan kunskap kan vara relevant, eftersom ekologisk uppfödning har hårdare krav gällande antibiotikaanvändning och därmed används antibiotika sparsammare inom sådan uppfödning (SLU, 2021). I Sverige används dock antibiotika ytterst sällan överlag till slaktkycklingar oavsett form av uppfödning (SVA och Folkhälsomyndigheten, 2018). I den aktuella undersökningen var andelen isolat som helt saknade resistensmarkörer för kliniskt viktiga antibiotikaklasser lägre för svenskt ekologiskt kött jämfört med konventionellt uppfött kött. Dessutom var andelen isolat med markörer för alla respektive antibiotikaklasser som påvisades (kinoloner, tetracykliner, aminoglykosider och betalaktamer) högre för ekologiskt kött. Skillnaden var dock antingen inte signifikant eller så var antalet positiva isolat inom respektive provkategori för lågt för att kunna undersöka ett statistiskt samband, varför resultaten ska tolkas med försiktighet.

Förekomsten av antibiotikaresistenta *C. coli* hos kyckling sett till resistensnivåer och utbredning av resistensmarkörer är vanligtvis högre än förekomsten av resistenta *C. jejuni* (Efsa och ECDC, 2021). Undersökningen innehöll dock för få *C. coli*-isolat för att kunna göra motsvarande bedömning av *campylobacter* från kycklingkött i butiksledet i Sverige. Resistensmarkörer som tycks vara särskilt förknippade med en art, såsom *aadE-Cc* för *C. coli* samt *gyrA_T86V* och en betalaktamresistensgen tillhörande familjen OXA-493 för *C. lari*, återfanns bland isolaten. Påvisandet av dessa kombinationer av resistensmarkör och *campylobacter*art är i likhet med vad som rapporterats i andra studier om *campylobacter* på kycklingkött (Rivera-Mendoza et al., 2020, Hull et al., 2021).

Resistensmarkörer hos *C. jejuni* hos patienter

För patienter undersökta i Sverige identifierades resistensmarkörer för kinoloner i 33 procent (*gyrA_T86I*), tetracykliner i 19 procent (*tet(O)*), aminoglykosider i 2 procent (*aph(3')-IIIa* och *aadE*) och makrolider i

0 procent av isolaten, medan i 65 procent av isolaten kunde ingen resistensmarkör för någon av dessa antibiotikaklasser identifieras.

Sedan 2017 rapporteras fenotypiska resistensdata i Swedres-Svarm där resistensbestämningarna utförts av olika laboratorier i landet. Under 2019 rapporterades 61 procent av isolaten vara fenotypiskt resistenta mot kinoloner, 33 procent mot tetracykliner och mindre än 1 procent mot makrolider, medan motsvarande siffror under 2018 var 50, 31 och 1 procent. Förekomsten av resistens var således lägre i denna genotypiska undersökning jämfört med fenotypiska data i Swedres (SVA och Folkhälsomyndigheten, 2018, SVA och Folkhälsomyndigheten, 2019). Det är värt att notera att alla regioner inte rapporterar fenotypiska resistensdata, så tillgängliga data är inte heltäckande. Dessutom, eftersom antibiotika enbart ges vid svåra och långvariga infektioner är det också troligt att det framförallt är i dessa fall som resistensbestämning faktiskt utförs. Isolaten som ingår i denna undersökning är istället insamlade från patienter med alltifrån milda till svåra infektioner och urvalet har varit begränsat i tid, samt att majoriteten varit från personer som smittats i Sverige. Eftersom skillnaderna är stora både i urval och metodik för resistensbestämning, är resultaten från Swedres och denna undersökning inte direkt jämförbara.

Intressant att belysa gällande denna studie är också den signifikanta skillnaden i förekomst av kliniskt relevanta resistensmarkörer mellan patienter som rapporterats smittade inom landet respektive utomlands, där 75 procent av isolaten från patienter med utlandssmita innehöll markörer för kinolonresistens jämfört med 22 procent av isolaten från de inhemska fallen. Även för tetracyklinresistens syns samma mönster där 51 procent av fallen med rapporterad trolig utlandssmita bar på genen tet(O) medan motsvarande siffra för rapporterad inhemsk smitta var 10 procent.

Koppling mellan släktskap och antibiotikaresistensprofil

Klusteranalyser, så kallad SNP-analys, för att undersöka genetiskt släktskap mellan C. jejuni-isolat från kycklingkött och från patienter tillhörande samma STs visade på ett samband mellan nära släktskap hos isolaten och att bära eller inte bära på specifika resistensmarkörer, men även mellan nära släktskap och ursprung/smittland. Inom vissa ST sågs en högre genetisk diversitet baserat på skillnader i antal SNPs mellan svenskkopplade respektive utlandskopplade isolat. Förutom i ett undantag så hittades till exempel inga markörer för kliniskt viktiga antibiotika (kinoloner, makrolider, tetracykliner eller aminoglykosider) hos isolat tillhörande ST257 vare sig från kycklingkött av svenskt ursprung eller från patienter som rapporterats smittade i Sverige. ST257 har sedan tidigare kopplats till ett svenskt utbrott 2015-2016 där ursprunget till smittan var konventionellt svenskproducerat kycklingkött (Livsmedelsverket och Folkhälsomyndigheten, 2019), och även i denna undersökning var alla ST257-isolat med svenskkoppling närbesläktade. Två isolat från patienter som smittats utomlands och med markörer för kinolon- respektive tetracyklinresistens avvek också släktskapsmässigt inom denna ST.

Även för isolat tillhörande ST148 och med mutationen gyrA_T86I för kinolonresistens syntes ett nära släktskap mellan isolat kopplade till inhemsk smitta och isolat från svenskt kycklingkött. Ett isolat avvek släktskapsmässigt och det var av utländsk härkomst samt saknade kliniskt relevanta resistensmarkörer. Även för ST19-isolat, vilka saknade markörer för resistens mot kliniskt viktiga antibiotika alternativt innehöll gyrA_T86I, sågs en koppling mellan nära släktskap och ursprung/smittland, där alla utom ett av de isolat som avvek mest inom ST19 hade utlandskoppling. Både ST148 och ST19 har tidigare, 2018 respektive 2020, orsakat utbrott i Sverige kopplat till svensk kycklingproduktion (Folkhälsomyndigheten, 2021d, Folkhälsomyndigheten, 2021c).

Som jämförelse visar motsvarande analyser för isolat tillhörande ST50 att dessa isolat uppvisade större skillnader mellan varandra med avseende på SNPs. De flesta av dessa isolat var kopplade till smitta i olika länder utanför Sverige eller utländskt kycklingkött, och innehöll minst en markör för resistens mot kliniskt viktiga antibiotika. Värt att notera för ST50 är att två isolat från två patienter var mer närbesläktade, endast 23 SNPs skillnad. Dessa båda isolat innehöll mutationen *gyrA_T86I* och genen *tet(O)*, och var rapporterade som smittade i Spanien.

Dessa analyser kan således ge en indikation om det är svenskkopplade isolat av *C. jejuni* eller inte, där vissa varianter verkar vara etablerade, det vill säga återkommer under flera års tid. Sammanfattningsvis visar analyserna att närbesläktade isolat bar på samma typ av resistensmarkörer alternativt saknade markörer. Nära släktskap kunde framförallt identifieras mellan isolat från svenskt kycklingkött och patienter som rapporterats smittade i Sverige

Genomgång av bioinformatiska verktyg och databaser

I denna studie liksom andra studier som fokuserar på *Campylobacter*, men också andra bakteriearter, syns aldrig en total överensstämmelse mellan genotypisk detektion av resistensmarkörer och fenotypisk känslighetstest (Feldgarden et al., 2019). Det kan bero på flera faktorer eller en kombination av dessa, till exempel gener som inte uttryckts, geners uttrycksnivå, att resistensfenotyp beror på samspelet av flera gener, okända gener, cellulär anpassning och att det kan finnas skillnader huruvida genen är belägen på plasmid eller kromosom. Dessutom är användaren beroende av att informationen som är tillgänglig i databaserna är verifierad, komplett, harmoniserad, korrekt och kontinuerligt uppdaterad. Denna undersökning och andra visar dessutom att resultatet av genotypisk resistensbestämning influeras av val av verktyg och databas. En möjlig svaghet med undersökningen är att de båda myndigheterna har haft olika arbetsflöde för bioinformatik, bioinformatisk pipeline, för att analysera sekvenseringsdata. Påverkan på resultatet är dock troligtvis begränsad då myndigheterna har använt sig av snarlika kvalitetsparametrar för sekvenserings- och bioinformatisk analys.

AMRFinderPlus och Resfinder/staramr gav överlag jämförbara resultat vid detektion av resistensgener, men AMRFinder identifierade generellt fler markörer än ResFinder/staramr, speciellt när det gällde detektion av *gyrA*-mutationerna. Att AMRFinder i högre grad är korrekt i sin identifiering av *gyrA*-mutationerna bekräftas också i den bättre sensitiviteten med den fenotypiska resistensbestämningen för fluorokinolon ciprofloxacin jämfört med Resfinder. Tidigare studier har också visat på en mycket god överensstämmelse mellan fenotypisk testning och genotypisk resistensbestämning för kinolonresistens (Dahl et al., 2021, Brehony et al., 2021, Zhao et al., 2016).

För förekomsten av genen *tet(O)* som kodar för tetracyclinresistens identifierade ResFinder förekomst av denna gen i två isolat än AMRFinderPlus, men i båda fallen var sensitiviteten gällande fenotypisk och genotypisk resistensbestämning lägre än vad som rapporterats i tidigare *C. jejuni*-studier (Dahl et al., 2021, Brehony et al., 2021, Zhao et al., 2016). Vad skillnaden jämfört med tidigare studier beror på kan inte förklaras, men det kan ha influerats av det relativt låga antalet isolat som testats i denna undersökning.

När det gäller makrolidresistens är det svårt att dra några närmare slutsatser baserat på resultaten i den nuvarande studien förutom att konstatera att inga resistensmarkörer eller fenotypisk resistens kunde påvisas för de analyserade isolaten (tabell 5).

Vid detektion av gener som kodar för aminoglykosidresistens var det också en skillnad mellan AMRFinder och ResFinder/staramr. AMRFinder hittade två isolat med genen *aph(3')-IIIa* och för ett isolat

identifierade AMRFinder den som positiv för aadE, medan ResFinder rapporterade samma isolat som positiv för ant(6)-Ia. Förklaringen när det gäller ant(6)-Ia/aadE är att det i Resfinders databas finns fyra stycken olika ant(6)-Ia inkluderade varav en är identiskt med den som benämns aadE i AMRFinder (manuellt undersökt av författarna, ej visade data), och denna sekvens skiljer sig också tydligt från de andra ant(6)-Ia (ej visade data). Att samma gen har två olika beteckningar beror på att det används i huvudsak två olika nomenklaturer parallellt för dessa enzymer och deras gener, vilket gör att det finns överlapp i namngivningen (Ramirez och Tolmasky, 2010). Det finns således behov av att fastställa en internationellt standardiserad och harmoniserad nomenklatur för dessa enzymer och de gener som kodar för dem. Det behövs även fördjupade studier runt aminoglykosidresistensenzymers nedbrytningsspektra (Ramirez och Tolmasky, 2010, NCBI, 2021). I denna undersökning inkluderades dock inte aminoglykosider i den fenotypiska resistensbestämningen på grund av det begränsade antalet isolat med dessa resistensgener samt att aminoglykosider inte används för att behandla campylobacterinfektioner i Sverige, även om användning förekommer globalt (Kaakoush et al., 2015, Shen et al., 2018).

AMRFinder och Resfinder/staramr skiljer sig också i hur de detekterar resistensmarkörer där AMRFinder använder sig av translaterade proteinsekvenser för att detektera resistensgener och punktmutationer medan ResFinder och staramr använder sig av nukleotidsekvenser. Det är en fördel att använda proteinsekvensen, eftersom det är förändringar i den sekvensen som ger upphov till eventuella förändringar i resistensfenotyp och så kallade tysta mutationer (en mutation som inte ger någon förändring i proteinsekvens) i nukleotidsekvensen negligeras då (Feldgarden et al., 2019, Feldgarden et al., 2020). En ytterligare fördel med att använda AMRFinder är att NCBI, som har utvecklat det verktyget, har tagit på sig ansvaret att handha och namnge nya gener som kodar för överförbar resistens mot antibiotika som bedöms vara särskilt viktiga för folkhälsan (WHO, 2019). Det gäller nya gener för beta-laktamaser med utvidgat spektrum (ESBL), överförbar fluorokinolonresistens och kolistinresistens.

Att använda genotypisk resistensbestämning i övervakningssyfte

I Sverige och många andra länder i till exempel EU har man alltmer börjat använda helgenomsekvensering som det primära typningsverktyget i den mikrobiella övervakningen, liksom i utbrottsutredningar och i källattributionstudier. Fritt tillgängliga verktyg och databaser för bioinformatisk resistensbestämning, vilka också har utvärderats i denna undersökning, ger möjlighet att komplettera redan etablerade analysflöden. I ett OneHealth-perspektiv kan man i projekt som detta undersöka och jämföra antibiotikaresistens hos livsmedelsburna bakterier och hos patienter, för att lättare kunna värdera spridningspotential och folkhälsorisker. Svenska genotypiska data för resistensövervakning av campylobacter kan sättas i ett EU-perspektiv vid till exempel rapportering till ECDC och Efsa, för att ge kunskap om resistensläget och se trender. Fortfarande görs fenotypisk resistensbestämning vid de kliniska mikrobiologiska laboratorierna när det finns behov av resistensbestämning som grund för antibiotikabehandling då den ger ett snabbare svar, samt att de genotypiska resistensmarkörerna, eller avsaknad av desamma, ibland kan avvika från de fenotypiska resultaten.

Slutsatser

- Inget av isolaten av *C. jejuni* från varken kött eller patienter innehöll markörer för resistens mot makrolider, vilka numera är förstahandsval i Sverige för infektioner med campylobacter.
- Samma typer av markörer för resistens mot de kliniskt viktiga antibiotikaklasserna kinoloner, tetracykliner och aminoglykosider återfanns hos *C. jejuni* från både kycklingkött och patienter.
- Markörer för resistens mot kliniskt viktiga antibiotika var klart vanligast förekommande hos *C. jejuni* från utländskt kött och patienter som smittats utomlands, vilket kan återspegla den generellt lägre användningen av antibiotika till livsmedelsproducerande djur och människor i Sverige i förhållande till andra länder.
- Klusteranalyser för att undersöka genetiskt släktskap mellan *C. jejuni* från kycklingkött och från patienter visade att närbesläktade isolat bar på samma typ av resistensmarkörer alternativt saknade markörer, framför allt isolat från svenskt kycklingkött och patienter som rapporterats smittade i Sverige.
- Utvärdering av förmågan hos de använda bioinformatiska verktygen och tillhörande databaser för resistensbestämning visade att AMRFinderPlus detekterade fler resistensmarkörer i generellt fler isolat av *Campylobacter* spp. än ResFinder och staramr.

Bilaga

Verknings- respektive resistensmekanismer hos campylobacter för fluorokinoloner, makrolider, tetracykliner och aminoglykosider beskrivs nedan.

Fluorokinoloner

Verkningsmekanism

Fluorokinoloner, till exempel ciprofloxacin, hämmar tillväxten hos bakterier genom att blockera två bakteriella enzymer, DNA-gyras och topoisomeras IV, vilka krävs för bakteriers DNA-replikation och transkription av gener.

Resistens hos campylobacter

Resistens mot fluorokinoloner uppkommer främst genom punktmutationer på kromosomen i de gener som kodar för DNA-gyras (gyrA, gyrB) eller DNA-topoisomeras (parC, parE) (RAF, 2019). Den viktigaste resistensmekanismen hos campylobacter är punktmutationer i genen gyrA där kinoloner binder in (Shen et al., 2018). En sådan mutation gör att antibiotikumet inte kan blockera enzymet, vilket är tillräckligt för att medföra höggradig fenotypisk resistens mot samtliga kinoloner. Mutationen C257T i gyrA-genen, vilken leder till T86I-utbyte i gyras-enzymet, är den vanligaste beskrivna mekanismen som ger resistens mot fluorokinoloner. Även förändringarna T86V, T86K, A70T och D90N har rapporterats hos campylobacter. Inaktivering av den kromosomalt kodade effluxpumpen CmeABC har visats göra bakterier helt känsliga för fluorokinoloner trots punktmutationerna, vilket indikerar att pumpen är nödvändig för sådan typ av resistens. Även plasmidburen kinolonresistens i form av qnrS-gener har rapporterats hos campylobacter (Marin et al., 2020, Abbasi et al., 2019). Qnr-enzym skyddar fluorokinolonernas bindningsställe och medför vanligen låggradig fenotypisk resistens (RAF, 2019).

Makrolider

Verkningsmekanism

Makrolider, till exempel erytromycin, binder till bakteriers ribosomer, vilket hämmar proteinsyntesen som sker där och därmed kan inte bakterierna föröka sig. Bindningsstället är den ribosomala RNA-molekylen, 23S rRNA, som tillsammans med 5S rRNA och flera ribosomala proteiner utgör den större 50S-subenheten i ribosomen. Den kemiskt nära besläktade azaliden azitromycin har samma verkningsmekanism.

Resistens hos campylobacter

Resistens mot makrolider uppkommer främst genom att bindningsstället i ribosomen ändras så att antibiotikumet inte kan binda in. Modifiering av bindningsstället kan bland annat ske genom tillägg av en metylgrupp, vilket leder till minskad bindning av makrolider till ribosomen. Den så kallade metyleringen orsakas av ett metyltransferas som kodas av plasmidburna eller kromosomala erm-gener, varav genen erm(B) har rapporterats hos campylobacter, och medför ofta höggradig makrolidresistens (Shen et al., 2018).

Den i litteraturen vanligaste beskrivna modifieringen av bindningsstället är dock genom punktmutationer i 23S rRNA-genen vid positionerna 2074 och 2075. Det är den vanligaste resistensmekanismen hos campylobacter och medför höggradig fenotypisk resistens mot makrolider (Shen et al., 2018). Även punktmutationer i form av utbyten och tillägg av nukleotider i gener för ribosomala proteinerna i 50S-subenheten, L4 (rplD-gener) respektive L22 (rplV-gener), har kopplats samman med makrolidresistens. Det är dock oklart huruvida dessa ger en fenotypisk resistens, och den verkar i så fall vara låggradig jämfört med mutationer i 23S rRNA (Bolinger och Kathariou, 2017, Dahl et al., 2021, Hull et al., 2021). Resistensmekanismer som orsakas av punktmutationer fungerar synergistiskt med effluxpumpen, CmeABC. Det innebär att inaktivering av pumpen kan göra bakterier med sådana punktmutationer mer känsliga för makrolider, men inte nödvändigtvis helt känsliga (Shen et al., 2018).

Tetracykliner

Verkningsmekanism

Tetracykliner, till exempel tetracyklin, hämmar också ribosomernas funktion vid proteinsyntesen i bakterier så att de slutar att föröka sig. Denna typ av antibiotika binder däremot till 16S rRNA-molekylen hos den lilla 30S-subenheten i ribosomen.

Resistens hos campylobacter

Den vanligast rapporterade mekanismen för tetracyklinresistens hos campylobacter är närvaro av ett ribosomalt skyddsprotein, som kodas av genen tet(O) (Shen et al., 2018). Proteinet binder till ribosomen alldeles i närheten av tetracyklin, vilket gör att bindningsstället för tetracyklin modifieras så att antibiotikumet släpper från ribosomen. Genen tet(O) kan finnas antingen på plasmid eller i kromosomen. Utöver tet(O) har också en så kallad mosaikgen bestående av tet(O/32/O) rapporterats ge tetracyklinresistens hos campylobacter, och nyligen rapporterades en mosaikgen där tet(32) ersatts av en tet(M), tet(O/M/O) (Warburton et al., 2016, Hormeno et al., 2020, Lopes et al., 2019). En kinesisk studie har nyligen rapporterat om en tet(L)-genvariant, vilken också gett nedsatt känslighet mot tetracyklin hos campylobakter (Yao et al., 2020).

Resistens mot tetracykliner kan också uppkomma genom effluxpumparna, CmeABC och CmeG, vilka är transportproteiner som pumpar tetracyklin och andra antibiotika ut ur cellen. Enligt Shen et al. (2018) behövs båda typerna av resistensmekanismer, Tet(O) och CmeABC, för att medföra höggradig fenotypisk resistens mot tetracykliner. Inaktivering av någon av pumparna ökar känsligheten hos campylobacter för tetracykliner (Shen et al., 2018).

Aminoglykosider

Verkningsmekanism

Aminoglykosider, t.ex. gentamicin, interagerar också med den lilla 30S-subenheten i ribosomen, med ett av de ribosomala proteinerna, och hämmar proteinsyntesen hos bakterier, men till skillnad mot tetracykliner så har aminoglykosider en avdödande effekt.

Resistens hos campylobacter

Den främsta mekanismen för resistens mot aminoglykosider hos campylobacter är enzymatisk inaktivering (Fabre et al., 2018, Shen et al., 2018). Det innebär att olika enzymer förändrar strukturen hos

aminoglykosider så att de inte kan binda till ribosomen, genom att sätta på en fosfatgrupp, acetylgrupp eller adenyl/nukleotidgrupp. Flera genvarianter för sådana fosfotransferaser (aph-gener), acetyltransferaser (aac-gener) respektive adenyl/nukleotidyltransferaser (aad/ant-gener) förekommer hos campylobacter och medför varierande grad av fenotypisk resistens mot olika aminoglykosider (Fabre et al., 2018, Shen et al., 2018). Exempel på vanligt förekommande resistensgener hos campylobacter är aph(3')-IIIa/aphA-3, som vanligtvis medför amikacin- och kanamycinresistens, samt olika varianter av aph(2'') och aadE/ant(6), som vanligtvis ger gentamicin- respektive streptomycinresistens (Fabre et al., 2018).

Betalaktamer

Verkningsmekanism

Betalaktamantibiotika, t.ex. ampicillin, hämmar tillväxten hos bakterier genom att binda till och inaktivera så kallade penicillinbindande proteiner; transpeptidaser i peptidoglykanlagret av bakteriecellen, vilket gör att cellväggssyntesen blockeras.

Resistens hos campylobacter

Resistens mot betalaktamer orsakas vanligen av produktion av en slags hydrolyserande enzym, betalaktamaser, som inaktiverar sådana antibiotika och som kodas av så kallade bla-gener. Nya varianter av dessa enzymer utvecklas genom stegvisa punktmutationer, varav ett flertal olika enzymer av typen OXA har rapporterats hos campylobacter. Dessa kodas av kromosomala blaOXA-gener och ger resistens mot penicillinliknande preparat (Hull et al., 2021, Rivera-Mendoza et al., 2020). Det tycks dock krävas en mutation i promotorregionen av blaOXA-genen för att den ska uttryckas hos bakterien, vilket gör att förekomst av blaOXA inte alltid medför fenotypisk resistens (Zeng et al., 2014, Ocejo et al., 2021).

Effluxpumparna CmeABC och CmeDEF kan också medföra resistens mot betalaktamantibiotika. Inaktivering av dessa pumpar har visats ge ökad känslighet mot ampicillin (Shen et al., 2018).

Referenser

- ABBASI, E., VAN BELKUM, A. & GHAZNAVI-RAD, E. 2019. Quinolone and Macrolide-Resistant *Campylobacter jejuni* in Pediatric Gastroenteritis Patients from Central Iran. *Microb Drug Resist*, 25, 1080-1086.
- BOLINGER, H. & KATHARIOU, S. 2017. The Current State of Macrolide Resistance in *Campylobacter* spp.: Trends and Impacts of Resistance Mechanisms. *Appl Environ Microbiol*, 83.
- BOLTON, D. J. 2015. *Campylobacter* virulence and survival factors. *Food Microbiol*, 48, 99-108.
- BORTOLAIA, V., KAAS, R. S., RUPPE, E., ROBERTS, M. C., SCHWARZ, S., CATTOIR, V., PHILIPPON, A., ALLESOE, R. L., REBELO, A. R., FLORENSA, A. F., FAGELHAUER, L., CHAKRABORTY, T., NEUMANN, B., WERNER, G., BENDER, J. K., STINGL, K., NGUYEN, M., COPPENS, J., XAVIER, B. B., MALHOTRA-KUMAR, S., WESTH, H., PINHOLT, M., ANJUM, M. F., DUGGETT, N. A., KEMPF, I., NYKASENOJA, S., OLKKOLA, S., WIECZOREK, K., AMARO, A., CLEMENTE, L., MOSSONG, J., LOSCH, S., RAGIMBEAU, C., LUND, O. & AARESTRUP, F. M. 2020. ResFinder 4.0 for predictions of phenotypes from genotypes. *J Antimicrob Chemother*, 75, 3491-3500.
- BREHONY, C., LANIGAN, D., CARROLL, A. & MCNAMARA, E. 2021. Establishment of sentinel surveillance of human clinical campylobacteriosis in Ireland. *Zoonoses Public Health*, 68, 121-130.
- CASSINI, A., HOGBERG, L. D., PLACHOURAS, D., QUATTROCCHI, A., HOXHA, A., SIMONSEN, G. S., COLOMB-COTINAT, M., KRETZSCHMAR, M. E., DEVLEESSCHAUWER, B., CECCHINI, M., OUAKRIM, D. A., OLIVEIRA, T. C., STRUELENS, M. J., SUETENS, C., MONNET, D. L. & BURDEN OF, A. M. R. C. G. 2019. Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis. *Lancet Infect Dis*, 19, 56-66.
- CLSI 2015. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Antimicrobial Dilution and Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria. Approved Guideline - Third Edition CLSI guideline M45 Ed3.
- DAHL, L. G., JOENSEN, K. G., OSTERLUND, M. T., KIIL, K. & NIELSEN, E. M. 2021. Prediction of antimicrobial resistance in clinical *Campylobacter jejuni* isolates from whole-genome sequencing data. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 40, 673-682.
- ECDC 2016. European Centre for Disease Prevention and Control. EU protocol for harmonised monitoring of antimicrobial resistance in human *Salmonella* and *Campylobacter* isolates. Ecdc Technical Document. June 2016.
- ECDC 2020. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial consumption in the EU/EEA – Annual Epidemiological Report 2019.
- EFSA & ECDC 2021. European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union Summary Report on Antimicrobial Resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2018/2019. *EFSA J* 19(4):6490. .
- EMA 2020. European Medicines Agency, European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption. Sales of veterinary antimicrobial agents in 31 European countries in 2018.
- FABRE, A., OLEASTRO, M., NUNES, A., SANTOS, A., SIFRE, E., DUCOURNAU, A., BENEJAT, L., BUISSONNIERE, A., FLOCH, P., MEGRAUD, F., DUBOIS, V. & LEHOURS, P. 2018. Whole-Genome Sequence Analysis of Multidrug-Resistant *Campylobacter* Isolates: a Focus on Aminoglycoside Resistance Determinants. *J Clin Microbiol*, 56.
- FELDGARDEN, M., BROVER, V., HAFT, D. H., PRASAD, A. B., SLOTTA, D. J., TOLSTOY, I., TYSON, G. H., ZHAO, S., HSU, C. H., MCDERMOTT, P. F., TADESSE, D. A., MORALES, C., SIMMONS, M., TILLMAN, G., WASILENKO, J., FOLSTER, J. P. & KLIMKE, W. 2019. Validating the AMRFinder Tool and Resistance Gene Database by Using Antimicrobial Resistance Genotype-Phenotype Correlations in a Collection of Isolates. *Antimicrob Agents Chemother*, 63.
- FELDGARDEN, M., BROVER, V., HAFT, D. H., PRASAD, A. B., SLOTTA, D. J., TOLSTOY, I., TYSON, G. H., ZHAO, S., HSU, C. H., MCDERMOTT, P. F., TADESSE, D. A., MORALES, C., SIMMONS, M., TILLMAN, G., WASILENKO, J., FOLSTER, J. P. & KLIMKE, W. 2020. Erratum for Feldgarden et al., "Validating the AMRFinder Tool and Resistance Gene Database by Using Antimicrobial Resistance Genotype-Phenotype Correlations in a Collection of Isolates". *Antimicrob Agents Chemother*, 64.
- FOLKHÄLSOMYNDIGHETEN 2021a. Campylobacterinfektion. <https://www.folkhalsomyndigheten.se/>. Smittsamma sjukdomar A-Ö. [Nedladdad juni 2021].
- FOLKHÄLSOMYNDIGHETEN 2021b. Campylobacter (Sverige 2016–2017). <https://www.folkhalsomyndigheten.se/>. Utbrottsarkiv. [Nedladdad juni 2021].

- FOLKHÄLSOMYNDIGHETEN 2021c. *Campylobacter* (Sverige nov 2018-jan 2019). <https://www.folkhalsomyndigheten.se/.Utbrottsarkiv>. [Nedladdad juni 2021].
- FOLKHÄLSOMYNDIGHETEN 2021d. *Campylobacter* (Sverige, aug-nov 2020). <https://www.folkhalsomyndigheten.se/.Utbrottsarkiv>. [Nedladdad juni 2021].
- FOLKHÄLSOMYNDIGHETEN 2021e. *Campylobacter* spp – mikrobiell övervakning. [https://www.folkhalsomyndigheten.se/.Mikrobiella och immunologiska övervakningsprogram](https://www.folkhalsomyndigheten.se/.Mikrobiella%20och%20immunologiska%20övervakningsprogram). [Nedladdad juni 2021].
- FOLKHÄLSOMYNDIGHETEN & LIVSMEDELSVERKET 2020. *Campylobacter* från butik och klinik – Jämförelser 2019.
- HORMENO, L., CAMPOS, M. J., VADILLO, S. & QUESADA, A. 2020. Occurrence of tet(O/M/O) mosaic gene in tetracycline-resistant *Campylobacter*. *Microorganisms*, 8.
- HULL, D. M., HARRELL, E., VAN VLIET, A. H. M., CORREA, M. & THAKUR, S. 2021. Antimicrobial resistance and interspecies gene transfer in *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* isolated from food animals, poultry processing, and retail meat in North Carolina, 2018-2019. *PLoS One*, 16, e0246571.
- INNES, G. K., NACHMAN, K. E., ABRAHAM, A. G., CASEY, J. A., PATTON, A. N., PRICE, L. B., TARTOF, S. Y. & DAVIS, M. F. 2021. Contamination of Retail Meat Samples with Multidrug-Resistant Organisms in Relation to Organic and Conventional Production and Processing: A Cross-Sectional Analysis of Data from the United States National Antimicrobial Resistance Monitoring System, 2012-2017. *Environ Health Perspect*, 129, 57004.
- KAAKOUSH, N. O., CASTANO-RODRIGUEZ, N., MITCHELL, H. M. & MAN, S. M. 2015. Global Epidemiology of *Campylobacter* Infection. *Clin Microbiol Rev*, 28, 687-720.
- LIVSMEDELSVERKET 2019. Lindqvist R. Sjukdomsbördan av inhemska fall av matförgiftning. Livsmedelsverkets rapportserie L 2019 nr 02.
- LIVSMEDELSVERKET & FOLKHÄLSOMYNDIGHETEN 2018. Dryselius R, Jernberg C. *Campylobacter* från butik och klinik – jämförelser under och efter utbrottet 2016–2017.
- LIVSMEDELSVERKET & FOLKHÄLSOMYNDIGHETEN 2019. Dryselius R, Jernberg C. *Campylobacter* från butik och klinik – jämförelser i augusti 2018. S 2019 nr 01.
- LOPES, B. S., STRACHAN, N. J. C., RAMJEE, M., THOMSON, A., MACRAE, M., SHAW, S. & FORBES, K. J. 2019. Nationwide stepwise emergence and evolution of multidrug-resistant *Campylobacter jejuni* sequence type 5136, United Kingdom. *Emerg Infect Dis*, 25, 1320-1329.
- MARIN, C., SEVILLA-NAVARRO, S., LONJEDO, R., CATALA-GREGORI, P., FERRUS, M. A., VEGA, S. & JIMENEZ-BELENQUER, A. 2020. Genotyping and molecular characterization of antimicrobial resistance in thermophilic *Campylobacter* isolated from poultry breeders and their progeny in Eastern Spain. *Poult Sci*, 99, 5096-5104.
- NCBI 2021. National Center for Biotechnology Information. Personlig kommunikation via e-post. Mars 2021.
- NRL-AMR 2021. Nationellt Referenslaboratorium för Antibiotikaresistens. <https://www.mikrobiologi.org/>. Klinisk mikrobiologi i Kronoberg och Blekinge, Region Kronoberg. [Nedladdad juni 2021].
- OCEJO, M., OPORTO, B., LAVIN, J. L. & HURTADO, A. 2021. Whole genome-based characterisation of antimicrobial resistance and genetic diversity in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from ruminants. *Sci Rep*, 11, 8998.
- RAF 2019. Referensgruppen för antibiotikafrågor. Antibiotikakompendium. November 2019. .
- RAMIREZ, M. S. & TOLMASKY, M. E. 2010. Aminoglycoside modifying enzymes. *Drug Resist Updat*, 13, 151-171.
- RIVERA-MENDOZA, D., MARTINEZ-FLORES, I., SANTAMARIA, R. I., LOZANO, L., BUSTAMANTE, V. H. & PEREZ-MORALES, D. 2020. Genomic Analysis Reveals the Genetic Determinants Associated With Antibiotic Resistance in the Zoonotic Pathogen *Campylobacter* spp. Distributed Globally. *Front Microbiol*, 11, 513070.
- SCILIFELAB 2021. Illumina. <https://ngisweden.scilifelab.se/technologies/illumina/>. Technologies. [Nedladdad juni 2021].
- SHEN, Z., WANG, Y., ZHANG, Q. & SHEN, J. 2018. Antimicrobial Resistance in *Campylobacter* spp. *Microbiol Spectr*, 6.
- SLU 2021. Sveriges lantbruksuniversitet. <https://www.slu.se>. SLU Ekologisk produktion och konsumtion. Antibiotikaanvändning och resistens. [Nedladdad september 2021].
- SVA & FOLKHÄLSOMYNDIGHETEN 2013. Statens Veterinärmedicinska Anstalt och Folhalsomyndigheten. SWEDRES-SVARM 2013. Use of antimicrobials and occurrence of antimicrobial resistance in Sweden.
- SVA & FOLKHÄLSOMYNDIGHETEN 2018. Statens Veterinärmedicinska Anstalt och Folhalsomyndigheten. SWEDRES-SVARM 2018. Consumption of antibiotics and occurrence of resistance in Sweden.
- SVA & FOLKHÄLSOMYNDIGHETEN 2019. Statens Veterinärmedicinska Anstalt och Folhalsomyndigheten. SWEDRES-SVARM 2019. Sales of antibiotics and occurrence of resistance in Sweden.

- SVENUNGSSON, B. & HERTTING, O. 2018. Behandling av bakteriella tarminfektioner. Läkemedelsboken. <https://www.lakemedelsboken.se>. Infektioner i tarmkanalen. [Nedladdad juni 2021].
- WARBURTON, P. J., AMODEO, N. & ROBERTS, A. P. 2016. Mosaic tetracycline resistance genes encoding ribosomal protection proteins. *J Antimicrob Chemother*, 71, 3333-3339.
- WHITEHOUSE, C. A., YOUNG, S., LI, C., HSU, C. H., MARTIN, G. & ZHAO, S. 2018. Use of whole-genome sequencing for *Campylobacter* surveillance from NARMS retail poultry in the United States in 2015. *Food Microbiol*, 73, 122-128.
- WHO 2019. World Health Organization. Critically important antimicrobials for human medicine, 6e upplagan.
- YAO, H., JIAO, D., ZHAO, W., LI, A., LI, R. & DU, X. D. 2020. Emergence of a novel tet(L) variant in *Campylobacter* spp. of chicken origin in China. *Antimicrob Agents Chemother*, 65.
- ZANKARI, E., ALLESOE, R., JOENSEN, K. G., CAVACO, L. M., LUND, O. & AARESTRUP, F. M. 2017. PointFinder: a novel web tool for WGS-based detection of antimicrobial resistance associated with chromosomal point mutations in bacterial pathogens. *J Antimicrob Chemother*, 72, 2764-2768.
- ZENG, X., BROWN, S., GILLESPIE, B. & LIN, J. 2014. A single nucleotide in the promoter region modulates the expression of the beta-lactamase OXA-61 in *Campylobacter jejuni*. *J Antimicrob Chemother*, 69, 1215-23.
- ZHAO, S., TYSON, G. H., CHEN, Y., LI, C., MUKHERJEE, S., YOUNG, S., LAM, C., FOLSTER, J. P., WHICHARD, J. M. & MCDERMOTT, P. F. 2016. Whole-Genome Sequencing Analysis Accurately Predicts Antimicrobial Resistance Phenotypes in *Campylobacter* spp. *Appl Environ Microbiol*, 82, 459-466.
- ÖSTLUND, E. 2019. BacIL - En Bioinformatisk Pipeline för Analys av Bakterieisolat. Examensarbete 30 hp, Uppsala Universitet. .

Rapporten redovisar resultatet av ett kunskapsuppbyggande projekt om antibiotikaresistens hos campylobacter som hittats på kycklingkött i butik och hos patienter i Sverige. Projektet har genomförts i samarbete mellan Folkhälsomyndigheten och Livsmedelsverket, för att förbättra kunskapsläget om campylobacter i livsmedelskedjan och för att få underlag till källattribution, riskvärdering och -hantering.

Livsmedelsverket är Sveriges expert- och centrala kontrollmyndighet på livsmedelsområdet. Vi arbetar för säker mat och bra dricksvatten, att ingen konsument ska bli lurad om vad maten innehåller och för bra matvanor. Det är vårt recept på matglädje.

Folkhälsomyndigheten är en nationell kunskapsmyndighet som arbetar för en bättre folkhälsa. Det gör myndigheten genom att utveckla och stödja samhällets arbete med att främja hälsa, förebygga ohälsa och skydda mot hälsohot. Vår vision är en folkhälsa som stärker samhällets utveckling.



Folkhälsomyndigheten



Livsmedelsverket