



Multiresistente Gram-negative bakterier – et økende globalt helseproblem

Av **BJØRG C. HALDORSEN**, spesialbioingeniør, M.Sc. og **ØRJAN SAMUELSEN**, forsker, dr. scient. Kompetansesenter for påvisning av antibiotikaresistens (K-res), Avdeling for mikrobiologi og smittevern, Universitetssykehuset Nord-Norge, Tromsø.

har ulike PBP, noe som er med på å forklare det antibakterielle spektrum til de forskjellige betalaktamene.

Resistens mot betalaktamer – betalaktamaser

I hovedsak finnes det fire ulike mekanismer som kan føre til at bakterier blir resistente mot antibiotika (se faktaboks).

Resistens mot betalaktamer kan oppstå som følge av alle fire resistensmekanismene, men enzymatisk inaktivering er den vanligste årsaken til resistensutvikling mot betalaktamer hos Gram-negative bakterier. Betalaktamaser er en fellesbetegnelse på enzymer som inaktiverer betalaktamene ved å hydrolysere eller «klippe opp» betalaktamringen og dermed inaktivere medikamentet. Betalaktamaser er en stor og divers familie av enzymer som kan produseres både av Gram-positive og Gram-negative bakterier.

I denne artikkelen er fokuset på betalaktamaser produsert av Gram-negative bakterier. Betalaktamaseaktivitet ble første gang beskrevet i 1940, altså allerede før betalaktamene klinisk ble tatt i bruk. Da beskrev Abraham og Chain det slik i Nature: «An Enzyme from Bacteria able to Destroy Penicillin». De viste at bakterieekstrakter fra *Escherichia coli* (*E. coli*) kunne inaktivere aktiviteten til penicillin. Nå vet vi at *E. coli* har en naturlig iboende betalaktamase. Tidlig på 60-tallet ble ampicillin, et mer bredspektret penicillin, introdusert. Det var i stand til å beskytte betalaktamringen mot betalaktamasen, og var også effektivt mot en del Gram-negative bakterier. Men bakterienes evne til også å motstå ampicillin utviklet seg raskt. Allerede i 1965 ble den første plasmidmedierte betalaktamase beskrevet i et *E. coli* blodkulturisolat fra en gresk pasient som het Temoniera.

SUPERBAKTERIER, monsterbakterier og dødsbakterier. Overskrifter som disse slår med jevne mellomrom mot oss fra media. Bak overskriftene kan det skjule seg ulike typer antibiotikaresistens, blant annet betalaktamresistens hos Gram-negative bakterier. Betalaktamer er vår viktigste antibiotikagruppe og representerte hele 46 % av det totale antibiotikaforbruket hos mennesker i Norge i 2010. Betalaktamer i kombinasjon med antibiotikagruppen aminoglykosider er også anbefalt i empirisk (erfaringsbasert) behandling av alvorlige infeksjonssykdommer, som for eksempel sepsis av ukjent årsak.

DET VAR I 1928 den skotske bakteriologen Alexander Fleming observerte at soppen *Penicillium* hemmer bakterievekst. Oppdagelsen ble starten på en ny æra i behandlingen av infeksjonssykdommer.

Den antibakterielle effekten til *Penicillium* ble observert allerede i 1871 av Sir John Burdon-Sanderson, og andre forskere som William Roberts, John Tyndall og Joseph Lister, men det er Fleming som har fått æren av å bli kalt antibiotikumets far. For selv om han ikke var den første som oppdaget den antibakterielle effekten, var han uten tvil den første til å studere substansen, som han kalte penicillin, nærmere. Sammen med Howard Walter Florey og Ernst Chain rapporterte han i 1940 at penicillin var effektivt i behandlingen av infeksjoner hos mus, rotter og katter. Året etter beskrev de vellykket penicillinbehandling av ti personer med *Staphylococcus aureus*-infeksjon.

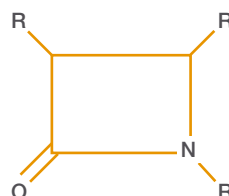
Betalaktamantibiotika

Penicillin var det første betalaktamantibiotikum som ble oppdaget. I de påfølgende tiår ble det oppdaget eller kjemisk

syntetisert flere nye betalaktamer. Felles for dem alle er en betalaktamring (Figur 1).

Ved å forandre på sidekjedene til betalaktamringen oppstår det molekyler med ulike antibakterielle og farmakologiske egenskaper. Betalaktamene deles gjerne inn i fire grupper; penicilliner, cefalosporiner, monobaktamer og karbapenemer (Tabell 1). Penicilliner deles videre opp i smalspektrede penicilliner eller bredspektrede penicilliner, mens cefalosporiner deles inn i generasjoner (1.- 4. generasjons cefalosporiner).

Alle betalaktamantibiotika hemmer syntese av celleveggen til bakteriene ved at de binder seg til penicillinbindende proteiner (PBP), som er viktige i syntesen av celleveggen. PBP er transpeptidaser som binder sammen peptidkjeder i bakteriens peptidoglykanlag. Ulike bakterier



FIGUR 1. Kjemisk struktur av betalaktamringen, som er felles for alle betalaktamantibiotika. R symboliserer ulike sidegrupper.

Betalaktamgruppe	Eksempel	Antibakterielt spektrum	
		Gram-negativ	Gram-positiv
Smalspektrede penicilliner	Penicillin G Penicillin V	-	+
Bredspektrede penicilliner	Ampicillin Piperacillin	(+)	+
1. generasjons cefalosporiner	Cefalotin Cefaleksin	(+)	+
2. generasjons cefalosporiner	Cefuroksim Cefoxitin	+	+
3. generasjons cefalosporiner	Cefotaksim Ceftazidim	+	+
4. generasjons cefalosporiner	Cefepim Cefpirom	+	+
Monobaktamer	Aztreonam	+	-
Karbapenemer	Imipenem Meropenem Ertapenem	+	+
- ingen aktivitet	(+) begrenset aktivitet og repertoar	+ aktiv	

TABELL 1. Oversikt over forskjellige betalaktamantibiotika og deres antibakterielle spektrum.

Betalaktamasen fikk derav betegnelsen TEM-1, og denne har siden spredd seg til 30-40 % av norske *E. coli*-isolater. Utviklingen av nye betalaktamer og betalaktamaser har siden gått parallelt.

Nomenklatur og klassifisering

Hos Gram-negative bakterier er det nå beskrevet >900 forskjellige betalaktamaser/betalaktamasevarianter (www.lahey.org/Studies). Opp gjennom årene har det ikke vært noen standardiserte regler for nomenklatur, og betalaktamaser har blitt navngitt på mange kreative måter. For eksempel har betalaktamasen CTX-M fått sitt navn fordi den er aktiv mot cefotaksim (CTX) og først ble identifisert i München (M).

Dette har ført til en uoversiktlig og kompleks materie.

Betalaktamasene kan også inndeles etter karakteristiske kjennetegn basert på proteinstruktur og/eller substratspesifisitet. I hovedsak kan betalaktamaser deles inn i to store grupper basert på proteinstrukturen; serinenzymer og metalloenzymer.

Som andre enzymer har betalaktamasene sin karakteristiske substratspesifi-

sitet. Avhengig av om en betalaktamase er mest aktiv overfor penicilliner, cefalosporiner eller karbapenemer, betegnes de som henholdsvis penicillinaser, cefalosporinaser eller karbapenemaser. Det enkelte enzym har også ulik bredde i sin substratspesifisitet; de kan bryte ned mange betalaktamer eller være klart mest effektivt overfor ett av flere nært beslektede betalaktamer (for eksempel cef-

tazidim eller cefotaksim). Enkelte betalaktamaser lar seg også hemme av ulike betalaktamase-inhibitorer. Disse betalaktamase-inhibitorene brukes både for å klassifisere og fenotypisk påvise betalaktamaser (se nedenfor), samt i kombinasjon med betalaktamer i behandling.

I tillegg til at betalaktamasene kan inndeles etter substratspesifisitet, skiller man også på om genet som koder for betalaktamasen sitter på et plasmid eller på bakteriekromosomet. Dersom resistensgenet sitter på et plasmid kan det lettere overføres til andre bakterier, noe som kan medføre at resistensen spres raskere. Man skiller også på om betalaktamasene er konstitutive eller induerbare. Konstitutive betalaktamaser uttrykkes og er aktive hele tiden, mens produksjonen av induerbare betalaktamaser kan settes i gang i nærvær av enkelte antibiotika.

For å forenkle nomenklaturen og gjøre forståelsen større for et bredere fagmiljø, ble det i 2009 foreslått en enklere nomenklatur for betalaktamaser med eksten-dert-spektrum (utvidet-spektrum) (Figur 2). Betalaktamaser med eksten-dert-spektrum er betalaktamaser som i tillegg til å inaktivere penicilliner også inaktiverer cefalosporiner med eksten-dert-spektrum og/eller karbapenemer. I den nye nomenklaturen blir alle slike betalaktamaser betegnet ESBL (eksten-dert-spektrum betalaktamaser) og videre klassifisert i 3 subgrupper (ESBL_A, ESBL_M og ESBL_{CARBA}).

FAKTA

Mekanismer som fører til at bakterier blir resistente mot antibiotika

■ NEDSATT OPPTAK AV ANTIBIOTIKA

Endring eller tap av poriner i yttermembranen fører til redusert permeabilitet. Antibiotika blir da ikke tatt opp i bakteriecellen, og man får nedsatt intracellulær konsentrasjon.

■ ENDRING AV MÅLSETTE

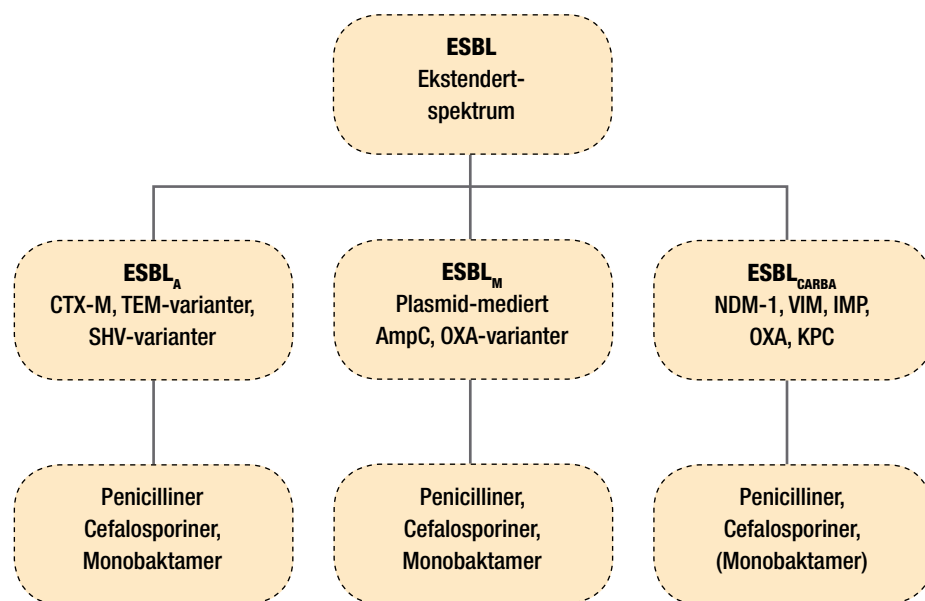
Mutasjoner i målmolekylet fører til at antibiotika ikke lenger kan binde seg og utøve sin effekt.

■ EFFLUKS AV ANTIBIOTIKA

Økt uttrykk av effluxpumper fører til at antibiotika blir pumpet ut av bakteriecellen.

■ ENZYMATISK INAKTIVERING AV ANTIBIOTIKA

Bakteriene produserer enzymer som enten bryter ned eller modifierer antibiotikumet og dermed inaktiverer det.



FIGUR 2. Oversikt over de forskjellige subgruppene av ESBL, eksempler og generelle substratprofiler. Innen hver gruppe kan substratprofilen variere mellom betalaktamasene og mellom forskjellige betalaktamasevarianter.

ESBL_A

Subgruppen ESBL_A inneholder de klassiske ekstendert-spektrum betalaktamasene som tidligere ble betegnet ESBL. ESBL_A-betalaktamasene kjennetegnes ved at de hydrolyserer penicilliner, cefalosporiner (1.- 4. generasjon), monobaktamer og hemmes av betalaktamaseinhibitorer som klavulansyre. Aktiviteten til betalaktamasene mot de forskjellige betalaktamene kan være variable. ESBL_A-betalaktamaser bryter ikke ned karbapenemer. De første ESBL_A betalaktamasene ble beskrevet tidlig på 80-tallet. De fleste var mutanter av smalspektrede betalaktamaser som TEM-1, TEM-2 og SHV-1. En til fire aminosyreforskjeller (sammenlignet med det opprinnelige enzymet) gjorde at disse kunne bryte ned cefalosporiner, i tillegg til penicilliner. Det første ESBL_A-enzymet som var i stand til å hydrolysere også de nye cefalosporinene var SHV-2, som ble funnet i et *Klebsiella ozaenae*-isolat i Tyskland i 1982. Stadig flere TEM- og SHV-varianter er beskrevet, og i dag er nærmere 200 ulike TEM- og 150 ulike SHV-enzym registrert (www.lahey.org/Studies). Det er likevel CTX-M som har blitt den mest utbredte ESBL_A-betalaktamasen globalt. CTX-M ble første gang isolert fra en *E. coli*-stamme i 1990, og har siden blitt rapportert fra de fleste områder i verden. Opphavet til de plasmidmedierte CTX-

M-betalaktamasene er trolig kromosomale betalaktamaser hos *Kluyvera* spp., som har flyttet seg over i andre bakterier i Enterobacteriaceae-familien. Basert på aminosyrehomologi kan CTX-M-enzymene klassifiseres innenfor fem ulike grupper; 1, 2, 8, 9 og 25, der CTX-M gruppe 1 og 9 er de mest vanlige. Mer enn 120 ulike CTX-M-varianter er så langt registrert. Andre mer sjeldne ESBL_A-betalaktamaser inkluderer VEB, PER og GES-varianter.

ESBL_M

I subgruppen ESBL_M står «M» for «miscellaneous», og omfatter betalaktamaser som plasmidmedierte AmpC- og OXA-enzymene. Mens OXA-enzymene som tilhører ESBL_M er sjeldne, er AmpC-betalaktamaser naturlig iboende i kromosomet hos mange forskjellige bakteriespecies, som for eksempel *E. coli*, *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Morganella morganii*, *Serratia marcescens*, *Providencia stuartii*, *Pseudomonas aeruginosa* og *Acinetobacter baumannii*. Den kromosomale AmpC er normalt ikke uttrykt, men genuttrykket kan slås på ved mutasjoner, eller ved innsetting av genetiske elementer foran genet som bidrar med en promoter region. Bakterier som *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis* og *Salmonella* spp. har ikke en naturlig iboende kromosomal AmpC-betalaktamase.

Kromosomale AmpC-betalaktamaser kan imidlertid bli mobilisert ved hjelp av mobile genetiske elementer, som for eksempel plasmider, og dermed spre seg til både bakterier med og uten kromosomal AmpC-betalaktamase. ESBL_M-begrepet brukes bare om AmpC-betalaktamaser som er blitt mobilisert og lokalisert på plasmider, derav betegnelsen plasmidmediert AmpC. Plasmidmedierte ESBL_M har vært kjent siden 1989 ved identifisering av CMY-betalaktamase i et *K. pneumoniae*-isolat i Sør-Korea. Til nå er det identifisert ni forskjellige familier av plasmidmedierte AmpC-betalaktamaser (CMY, FOX, MIR, MOX, DHA, LAT, BIL, ACT og ACC) hos Enterobacteriaceae, og innen hver familie kan det være flere varianter. De plasmidmedierte AmpC-betalaktamasene er nært beslektet med de kromosomale AmpC-betalaktamasene. Globalt sett har CMY blitt den mest utbredte plasmidmedierte AmpC-betalaktamase med bredest geografisk spredning.

ESBL_M-betalaktamaser karakteriseres ved at de er aktive mot penicilliner og ekstendert-spektrum cefalosporiner, med økt aktivitet mot cefalosporiner som for eksempel cefoxitin. De lar seg hemme av betalaktamaseinhibitorene kloxacillin og borsyre. ESBL_M-betalaktamaser har lav aktivitet mot monobaktamer og bryter ikke ned karbapenemer.

ESBL_{CARBA}

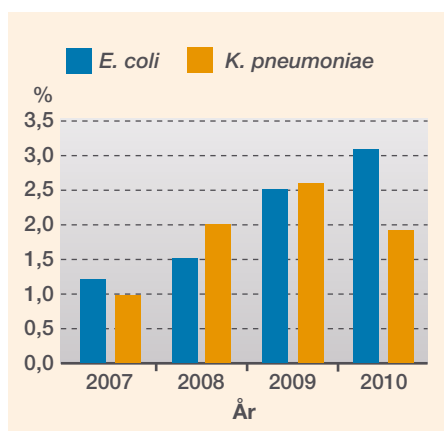
For å imøtekomme spredningen av ESBL_A og ESBL_M ble betalaktamgruppen karbapenemer utviklet. Økt bruk av karbapenemer har sannsynligvis ført til spredning av betalaktamasene som tilhører gruppen ESBL_{CARBA}. Disse blir ofte omtalt som karbapenemaser på grunn av deres evne til å inaktivere karbapenemer. I tillegg kan de fleste ESBL_{CARBA}-betalaktamasene inaktivere stort sett alle betalaktamaser. Bakterier som produserer en ESBL_{CARBA} er derfor gjerne resistente mot alle betalaktamantibiotika, noe som reduserer behandlingsalternativene dramatisk. I tillegg blir de ikke inaktivert av klinisk brukte betalaktamasehemmere som klavulansyre og tazobaktam. Spredningen av disse betalaktamasene vekker derfor bekymring. ESBL_{CARBA}-gruppen består i hovedsak av to subgrupper; serinkarbapenemaser og metallo-

betalaktamaser. I hver subgruppe er det blitt identifisert flere forskjellige betalaktamaser. De mest utbredte serinkarbapenemasene er KPC og OXA-karbapenemaser, mens VIM, NDM og IMP dominerer blant metallo-betalaktamasene. Metallo-betalaktamasene lar seg hemme av inhibitoren EDTA, mens KPC lar seg hemme av borsyre. Dette er nyttig hjelp i den fenotypiske påvisningen (se nedenfor).

Epidemiologi og forekomst i Norge

ESBL_A og ESBL_M

Europeiske overvåkningsdata viser at forekomsten av resistens mot tredje generasjons cefalosporiner (ceftazidim og cefotaksim) hos *E. coli* i Europa varierte mellom 2,6 og 24,8 % i 2010. De siste årene har det vært observert en signifikant økning i cefalosporinresistens i halvparten av landene som rapporterer inn til European Centre for Disease Control and Prevention (ECDC). Den laveste forekomsten ble registrert i Sverige (2,6 %), Finland og Norge (3,7 %). ESBL_A og ESBL_M var årsak til cefalosporinresistensen i en stor andel av *E. coli*-stammene; i enkelte land opptil 85-100 %. Betalaktamasen CTX-M-15 er dominerende blant de ESBL_A-positive stammene, mens CMY er dominerende blant ESBL_M-stammene. Data fra Norsk overvåkningssystem for antibiotikaresistens i mikrober (NORM) fra 2010 viser at 3,1 % av *E. coli*-stammene isolert fra blodkultur var ESBL_A-positive, noe som er en økning fra tidligere år (Figur 3). Også i Norge er CTX-M den domi-



FIGUR 3. Forekomst av ESBL_A hos *E. coli* og *K. pneumoniae* i blodkulturisolater i Norge fra 2007 – 2010.

nerende ESBL_A-typen (70 %). Det finnes ikke tilgjengelige data for ESBL_M i Norge.

For *K. pneumoniae* viser de europeiske tallene fra 2010 at forekomsten av resistens mot tredje generasjons cefalosporiner er høyere enn hos *E. coli*. Forekomsten varierer fra 1,7 % (Sverige) til 75,6 % (Bulgaria). Andelen ESBL_A-positive av de cefalosporinresistente var mellom 60 og 100 %.

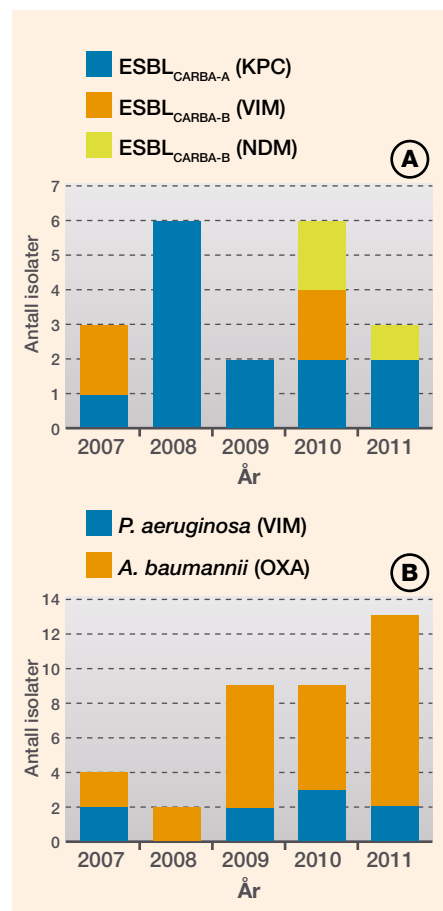
NORM-data fra 2010 viser at 1,5 % av *K. pneumoniae*-stammene isolert fra blodkulturer i Norge var ESBL-positive. CTX-M var den dominerende ESBL_A-typen også her (87,5 %). Med unntak av 2010 har det vært en økning av ESBL_A-produserende *K. pneumoniae* i Norge (Figur 3).

Data fra 2010 fra den danske overvåkingen av antibiotikaresistens (DANMAP) viser at Danmark skiller seg ut fra de øvrige nordiske landene med en betydelig høyere forekomst av resistens mot tredje generasjon cefalosporiner i *E. coli* (7 %) og *K. pneumoniae* (9 %) i blodkulturisolater. I deler av Danmark var andelen av resistens hele 24 %. Tallene for Danmark er mer sammenlignbare med landene i Mellom-Europa, noe som kan tyde på at den alvorlige resistensutviklingen beveger seg nordover.

ESBL_{CARBA}

Den globale spredningen som nå skjer av ESBL_{CARBA} i flere forskjellige klinisk viktige Gram-negative bakterier som *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. aeruginosa* og *A. baumannii*, vekker stor bekymring. Globalt har man sett at det finnes såkalte «hot-spot»-regioner hvor prevalensen av ESBL_{CARBA} er spesielt høy. Dette gjelder for eksempel Hellas, Israel, Italia, India, Brasil, nordøst-kysten av USA og deler av sørøst-Asia. Flere rapporter beskriver nå lokale og nasjonale utbrudd av ESBL_{CARBA}-produserende Gram-negative bakterier. Et viktig aspekt er den svært raske spredningen. I Hellas var for eksempel andelen karbapenemresistente *K. pneumoniae*-isolater fra sykehus mindre enn 5 % i 2001, mens den i 2006 var steget til >70 %. I all hovedsak skyldes dette spredningen av ESBL_{CARBA}-betalaktamasen VIM.

Et annet eksempel er den globale spredningen av ESBL_{CARBA}-betalaktamasen NDM. NDM er også kalt New Delhi-metallo-betalaktamase, og ble først oppdaget i Sverige i 2008 hos en pasient som tidlige-



FIGUR 4. Antall isolater med ESBL_{CARBA} i Norge og genotype. A: Enterobacteriaceae, B: *A. baumannii* og *P. aeruginosa*.

re hadde vært innlagt på sykehus i India. NDM fikk stor oppmerksomhet i internasjonale media i 2010 etter at det ble publisert en artikkel som viste at det hadde skjedd en unormal økning av NDM-produserende Gram-negative bakterier i Storbritannia, og at det kunne være en link til India og Pakistan. Videre har man vist at NDM-genet og NDM-produserende bakterier sirkulerer ute i miljøet i India. På kun få år har NDM-produserende Gram-negative bakterier spredd seg globalt. I Europa har ECDC nylig gjort en oppsummering hvor man viste at NDM-produserende Gram-negative bakterier er identifisert i 13 europeiske land, også i Norge.

I Norge og de andre nordiske landene er tilfellene av ESBL_{CARBA}-produserende Gram-negative bakterier fortsatt meget lav, og de fleste tilfellene har vært assosiert med import via pasienter som har vært innlagt på sykehus i utlandet.

Figur 4A og B viser antall ESBL_{CARBA}-isolater identifisert ved Kompetanse-

senter for påvisning av antibiotikaresistens i Norge (K-res) i perioden 2007-2011 for henholdsvis Enterobacteriaceae, *P. aeruginosa* og *A. baumannii*. Det er verd å merke seg at det ikke bare er én variant av ESBL_{CARBA}-betalaktamaser som spres, men flere forskjellige varianter, noe som gjør deteksjon og identifisering utfordrende. Selv om de fleste tilfellene er assosiert med import, har vi i Norge sett tilfeller av nosokomial (innenfor sykehus) smittespredning og at ESBL_{CARBA}-produserende Gram-negative bakterier kan overleve i sykehusmiljø over lang tid.

Spredning og multiresistens

Bakterier som er resistente mot 3 eller flere antibiotikagrupper, betegnes som multiresistente.

De beskrevne betalaktamasene er assosiert med mobile genetiske elementer som for eksempel plasmider. Dette er genetiske elementer som kan spre seg mellom bakterier av samme species og mellom forskjellige species. Dette fører til en effektiv spredning av resistensgener. I tillegg kan plasmider bære med seg resistensgener

mot andre antibiotikagrupper, som for eksempel aminoglykosider, fluorokinoloner og trimetoprim-sulfametoksazole. Dette fører til at bruk av én type antibiotika er med på å selekttere og spre resistens til andre typer antibiotika. Utvikling av multiresistens er illustrert i Figur 5. Bakterier som mottar slike plasmider blir ofte multiresistente og behandlingsalternativene blir dermed svært begrenset. Man observerer nå at isolater som produserer en ESBL_{CARBA}-betalaktamase er resistente mot alle tilgjengelige antibiotika.

En slik kobling av resistens kan også illustreres ved analysing av ESBL_A-produserende *E. coli* i Norge fra 2007 og 2008. Resistens mot aminoglykosidet gentamicin var totalt på 2,9-3,9 % denne perioden, mens blant ESBL_A-produserende *E. coli* var hele 45 % resistente også mot gentamicin.

Påvisning av ESBL i laboratoriet

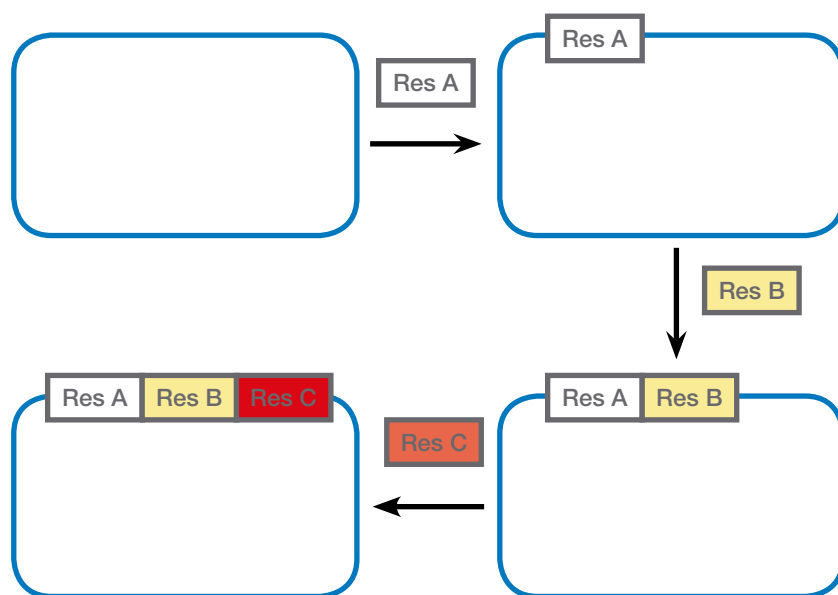
EUCASTs (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) disk-diffusjon er den vanligste metoden som

norske medisinske mikrobiologiske laboratorier i dag bruker for å undersøke ulike bakteriers følsomhet for ulike antibiotika (Les artikkelen om EUCAST i neste nummer). I tillegg benytter en del laboratorier også automatiserte systemer. Dette gjelder spesielt for urinprøver, som utgjør en stor del av prøvevolumet ved det enkelte laboratorium. Dersom man påviser resistens mot (eller nedsatt følsomhet for) ekstendert spektrum betalaktamer, er det vanlig å benytte gradienttester eller kombinasjonslapper for å fenotypisk bekrefte funnet og påvise de ulike betalaktamasene mer spesifikt. I disse testene gjør man nytte av ulike betalaktamasehemmere som klavulansyre for ESBL_A, borsyre/kloxacillin for ESBL_M, samt borsyre og EDTA for ESBL_{CARBA}.

Kombinasjonslapper kan brukes for å påvise eventuell tilstedeværelse av ESBL_A gjennom å undersøke bakteriens følsomhet overfor ulike cefalosporiner (cefotaksim og ceftazidim) med og uten klavulansyre. Tilstedeværelse av ESBL_A indikeres av forskjell i sonestørrelse mellom lapper med og uten klavulansyre på ≥ 5 millimeter (Figur 6). På samme måte er kombinasjonslapper tilgjengelige for å påvise ESBL_M og ESBL_{CARBA}.

Gradienttester gjør også bruk av hemmere for å påvise ulike klasser av betalaktamaser. For påvisning av ESBL_{CARBA} benyttes gradienttester med et karbapenem i den ene enden av stripen (meropenem eller imipenem), og det aktuelle karbapenem i kombinasjon med EDTA i den andre enden av stripen. (Figur 7). Minste hemmende konsentrasjon (MIC-verdi) avleses med og uten hemmer, og ratio beregnes. En ratio ≥ 8 og/eller tilstedeværelse av en såkalt fantomsone eller pæreformet sone regnes som positiv test. Tilsvarende gradienttester er også tilgjengelige for påvisning av ESBL_A og ESBL_M.

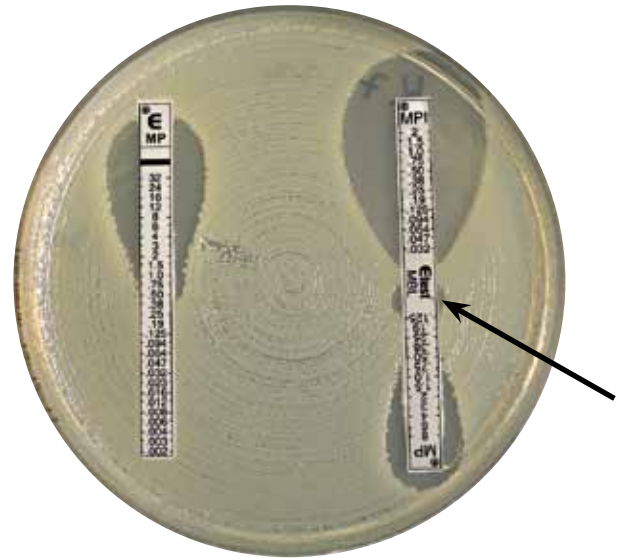
Fenotypiske konfirmasjonstester er en god hjelp til å identifisere ulike betalaktamaser, men molekylære metoder, som PCR, må brukes for endelig påvisning. For noen betalaktamaser finnes det ikke noen tilgjengelige hemmere. Dette gjelder for eksempel OXA-48, som er en ESBL_{CARBA}. Det er også svært viktig med en korrekt species-identifikasjon for å tolke de ulike resistensmønstrene og resultatene fra testene, da disse ikke fungerer likt blant alle Gram-negative bakterier.



FIGUR 5. Utvikling av multiresistens. Resistensgener samler seg på et plasmid og fører til utvikling av multiresistens. Resistensgenene spres da videre sammen og bruk av en type antibiotika er med på å videre selekttere og spre resistensgener for en annen type antibiotika. Figur reproduisert med tillatelse fra Sundsfjord A et al. Tidsskr. Nor. Legeforen. 2008;128:2741-2745.



FIGUR 6. CTX-M (ESBL_A) positiv *K. pneumoniae* isolat med kombinasjonslapper. På øverste halvdel av agarskåla ser man CAZ30 (ceftazidim) og CAZ-CLA (ceftazidim med klavulansyre). På nedre del av skåla vises CTX30 (cefotaksim) og CTX-CLA (cefotaksim med klavulansyre). Forskjell i sonestørrelse > 5 mm mellom cefalosporinet, og cefalosporinet i kombinasjon med klavulansyre, indikerer positiv test.



FIGUR 7. NDM-1 (ESBL_{CARBA}) positiv *E. coli*-stamme med meropenem gradientstrip til venstre. Gradientstripsen til høyre viser meropenem i nederste delen av stripsen og meropenem i kombinasjon med betalaktamsehemmeren EDTA i øverste del. Ratio mellom meropenem/meropenem + EDTA ≥ 8 og/eller fantomsone tolkes som positiv test. I dette tilfellet ser man en liten fantomsone i form av svak oppklaring i veksten av bakterien på midten av stripsen (se pil).

Avslutning

Det skjer nå en bekymringsfull global spredning av betalaktamaseproduserende Gram-negative bakterier. En nylig studie utført av et europeisk nettverk (BURDEN) basert på utviklingen av resistens i Europa predikerer at antallet bakteriemier forårsaket av ESBL-produserende *E. coli* vil øke markant, mens for meticillinresistente *S. aureus* (MRSA) vil forekomsten stabiliseres og gå ned. Norge tar del i den globale spredningen, og det er derfor viktig at vi opprettholder vår restriktive antibiotikapolitikk, samtidig som vi har fokus på smittevernmessige aspekter. Siden import av resistens ser ut til å være en viktig faktor, vil screening for multiresistente Gram-negative bakterier hos pasienter som har vært innlagt på sykehus i utlandet være svært viktig for å hindre videre spredning. Påvisning og identifisering av de forskjellige ESBL-typer vil derfor være en viktig del av laboratorienes arbeid med å gi relevant og presis informasjon og dermed bidra til korrekt behandling, målrettet smittevern og god overvåking. På grunn av økningen internasjonalt av multiresistente Gram-negative bakterier, er det nå fremmet forslag om å klassifisere smittebæretilstander og

infeksjoner med Enterobacteriaceae, *P. aeruginosa* og *Acinetobacter* spp. med spesielle resistensmekanismer, som sykdommer i gruppe A i MSIS (Meldesystem for smittsomme sykdommer). Smittsomme sykdommer som klassifiseres i gruppe A er sykdommer som er nødvendig å overvåke med detaljerte opplysninger i hvert enkelt tilfelle av hensyn til smittevernet og internasjonale forpliktelser.

Bioingeniørene er de første i laboratoriet som analyserer prøver og står derfor i førstelinjen når antibiotikaresistente bakterier skal oppdages. Det er derfor viktig at bioingeniører har oppdatert kunnskap om resistens og metoder for påvisning av resistens. Bioingeniørene har en sentral rolle i å begrense utbredelsen av resistente mikrober. ■

Relevant litteratur

Felles internettportal for aktiviteter og institusjoner innen antibiotikaresistens i Norge: www.antibiotikaresistens.no

European Centre for Disease Control and Prevention: <http://ecdc.europa.eu>

Danish Integrated Antimicrobial resistance Monitoring and Research Programme: www.danmap.org
Smittskyddsinstitutet i Sverige: www.smittskyddsinstitutet.se

Folkehelseinstituttet: www.fhi.no

Forebygging og kontroll av spredning av multiresistente gramnegative stavbakterier og ESBL-holdige bakterier i helseinstitusjoner. Folkehelseinstituttet. www.fhi.no

Konsekvenser och risker med resistensutveklning hos gramnegativa tarmbakterier med karbapenemasproduksjon tilhørende familjen Enterobacteriaceae (ESBL_{CARBA}). Smittskyddsinstitutet. www.smittskyddsinstitutet.se

NORM/NORM-VET 2010. Usage of Antimicrobial Agents and Occurrence of Antimicrobial Resistance in Norway, Tromsø/Oslo 2010.

de Kraker MEA, Davey PG, Grundmann H, on behalf of the BURDEN study group. Mortality and hospital stay associated with resistant *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteremia: estimating the burden of antibiotic resistance in Europe. *PLoS Med.* 2011;8:e1001104.

Giske CG, Sundsfjord A, Kahlmeter G, Woodford N, Nordmann P, Paterson DL, Cantón R, Walsh TR. Redefining extended-spectrum β -lactamases: balancing science and clinical need. *J. Antimicrob. Chemother.* 2009;63:1-4.

Sundsfjord A, Simonsen GS, Haldorsen B, Lundblad EW, Samuelsen Ø. Bredspektrede betalaktamaser hos gramnegative bakterier. *Tidskr. Nor. Legeforen.* 2008;128:2741-2745.

Tveten Y, Sarjooma MA, Skaare D, Grude N, Samuelsen Ø. Hvordan stoppe multiresistente bakterier? *Tidskr. Nor. Legeforen.* 2011;131:698-700.

Walsh TR. Emerging carbapenemases: a global perspective. *Int. J. Antimicrob. Agents* 2010;S8-S14.