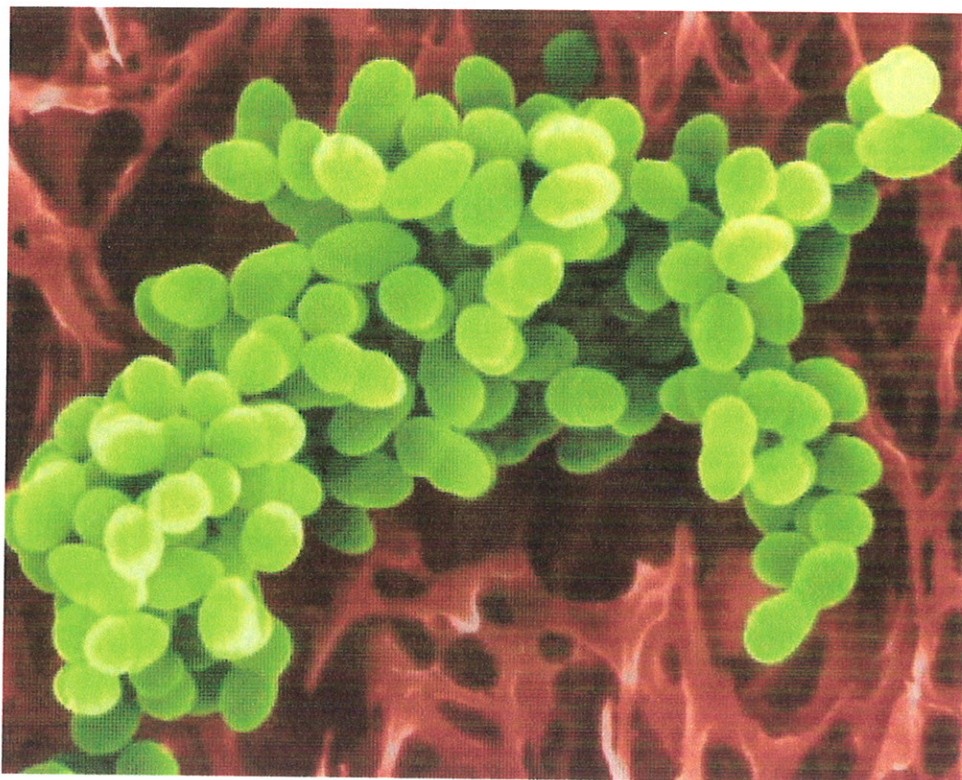


# MRSA OG ANTIBIOTIKARESISTENS



## 5. ÅRSOPPGAVE, STADIUM IV MEDISINSTUDIET, UNIVERSITETET I TROMSØ

Skrevet av:  
Cecilie Borch Staff, kull 99.  
Linda C. Sørensen, kull 99.

Veileder:  
Prof. Dr. med. Arnfinn Sundsfjord

Tromsø 2004

## INNHALDSFORTEGNELSE

**Forside:** Illustrasjon adaptert fra "MRSA og screening med Oxacillin" av M. Batbayli (2).

<b>1. Resymé</b> .....	3
<b>2. Introduksjon</b> .....	5
<b>3. Molekylære resistensmekanismer hos bakterier</b> .....	6
3.1. Typer resistens.....	6
3.2. Biokjemiske resistensmekanismer.....	7
3.3. Genetiske resistensmekanismer.....	9
<b>4. Utviklingen av antibiotikaresistens og situasjonen i dag</b> .....	13
4.1. Antibiotikaresistensens barndom.....	13
4.2. Bruk og misbruk av antimikrobielle midler i dagens samfunn.....	14
4.3. Bruk av desinfiseringsmidler og antiseptika.....	15
4.4. Bruk av antimikrobielle midler i landbruket og veterinærtjenesten.....	16
4.5. Mulige tiltak i kampen mot antibiotikaresistens.....	17
<b>5. <i>Staphylococcus aureus</i>' mikrobiologi</b> .....	20
<b>6. MRSA. Introduksjon</b> .....	24
<b>7. Molekylær og biokjemisk basis for methicillinresistens hos <i>S. aureus</i></b> .....	26
7.1. Mekanismer for resistens mot methicillin.....	26
7.2. SCC <i>mec</i> .....	26
7.2.1 <i>mecA</i> og PBP2a.....	29
7.3. Regulering av <i>mecA</i> : <i>mecI</i> og <i>mecR1</i> .....	30
7.4. fem-genene/-faktorene.....	31
7.5. Resistensens fenotype; heterogen og homogen resistens.....	32

7.6. Borderlineresistens.....	33
7.7. Methicillinresistensens opprinnelse.....	34
7.8. Epidemiske MRSA.....	35
<b>8. Antimikrobielle agenter aktive mot MRSA.....</b>	<b>36</b>
8.1. Betalaktamantibiotika.....	36
8.2. Vancomycin.....	36
8.3. Teicoplanin.....	37
8.4. Fluorokinoloner.....	37
8.5. Trimetoprim-sulfametoxazol.....	38
8.6. Rifampicin.....	38
8.7. Aminoglykosider.....	38
8.8. Oxazolidinones (linezolid og eperezolid).....	39
<b>9. Metoder for påvisning av MRSA.....</b>	<b>40</b>
<b>10. Epidemiologiske fakta vedrørende antibiotikabruk og MRSA.....</b>	<b>41</b>
10.1. MRSA-forekomsten i Norge.....	42
10.2. MRSA-infeksjoner ervervet utenfor sykehus.....	43
10.3. MRSA-forekomsten utenfor Norge.....	43
10.4. Risikofaktorer for MRSA-infeksjon og spredning av MRSA.....	45
10.5. Konsekvenser av MRSA.....	45
<b>11. Konklusjon.....</b>	<b>47</b>
<b>12. Epidemiologiske figurer og tabeller.....</b>	<b>48</b>
<b>13. Litteraturlisteliste.....</b>	<b>49</b>

## 1. RESYMÉ

Bakteriell antibiotikaresistens er en økende trussel mot effektiv behandling av både nosokomiale infeksjoner og infeksjoner ervervet utenfor sykehus. Vi valgte tema for oppgaven ut fra personlig interesse, problemstillingens aktualitet og antibiotikaresistensens økende betydning for fremtiden. Oppgaven er basert på relevant litteratur, vitenskapelige artikler og samtaler med veileder.

Oppgaven omhandler den genetiske og molekylære basis for bakteriell antibiotikaresistens med hovedfokus på MRSA. Videre har vi valgt å se på antibiotikaresistensens utvikling, epidemiologi og klinikk.

Resistensmekanismer fortsetter å utvikle og spre seg blant både gramnegative og grampositive bakterier, og nye problemer er under utvikling, slik som for eksempel epidemiske MRSA-kloner.

Bakterier har blitt resistente ovenfor antibiotika som et resultat av kromosomale forandringer og/eller utveksling av genetisk materiale. Utviklingen av resistente bakterier som for eksempel *Staphylococcus aureus*, enterokokker og *Mycobacterium tuberculosis* har gjort mange av de antibiotika vi har i dag ineffektive i behandlingen av infeksjoner forårsaket av disse mikroorganismene.

Resistensutvikling er snarere regelen enn unntaket etter introduksjon av nye antibiotika. En viktig utfordring for fremtiden er å kunne forebygge og kontrollere utbredelsen av multiresistente bakterier, herunder MRSA.

MRSA-infeksjoner sees i all hovedsak på sykehus, men de siste årene har det vært hyppigere tilfeller av MRSA også utenfor sykehus. I Norge er det etablert flere tiltak for å begrense utviklingen og spredningen av resistente mikrober, blant annet Regjeringens tiltaksplan mot antibiotikaresistens og NORM (Norsk overvåking av resistente mikrober).

I kampen mot de resistente mikrobene, står en rekke tiltak helt sentralt. Noen av de viktigste tiltakene inkluderer aktpågivenhet når det gjelder import av pasienter/personale fra

utenlandske sykehus, overvåkning av utbrudd av endemiske eller epidemiske stammer og krav om innskjerpede hygieniske retningslinjer ved utbrudd på sykehus. Vi må bli mer ansvarsfulle og bevisste i bruken av antibiotika, og vi må erkjenne at ikke alle bakterier er av det onde. Kampen mot mikrobene er ennå ikke tapt, men om vi taper den, vil konsekvensene for helseomsorgen kunne bli katastrofale.



## 2. INTRODUKSJON.

Siden antibiotika ble introdusert i klinisk bruk på midten av 1940-tallet, har mikroorganismer vist en bemerkelsesverdig evne til å overleve gjennom resistensutvikling mot antibiotika (13, 47, 52). Resistens er allerede et stort medisinsk problem, og ser ikke ut til å bli mindre i fremtiden om dagens utvikling fortsetter.

Oppgaven vi har skrevet omfatter molekylærbiologiske resistensmekanismer, resistensens kliniske og sosioøkonomiske konsekvenser, omfang og utbredelse. Hovedfokuset er rettet mot MRSA.

Antibiotikaresistens er mikroorganismenes evne til å utvikle resistens mot antimikrobielle agenter. WHO har kommet fram til to definisjoner av resistens:

1. En bakteriestamme blir ansett som resistent når den tolererer en antibiotikakonsentrasjon som er betraktelig høyere enn den konsentrasjonen som hemmer utviklingen av majoriteten av de andre stammene av samme art.
2. En bakteriestamme anses å være resistent når den tolererer konsentrasjoner av et antibiotikum som er markant høyere enn den konsentrasjonen som er mulig å etablere in vivo.

Den første definisjonen korresponderer til ”kategorier av bakteriepopulasjoner” og den andre til ”terapeutiske kategorier” på basis av farmakokinetiske og kliniske kriterier (Sirot *et al.*,1996).



### **3. MOLEKYLÆRE RESISTENSMEKANISMER HOS BAKTERIER**

I løpet av de siste tiårene, har bakteriene vist en rekke bemerkelsesverdige og uventede overlevelsesstrategier mot antimikrobielle midler. Bakterienes resistensmekanismer har vist seg å være langt mer avansert enn først antatt, og til tross for stadig ny kunnskap på området, har ikke problemet blitt mindre. Resistente bakterier kan leve og multiplisere i terapeutiske doser antibiotika, de kan duplisere og utveksle overlevelsesinformasjon seg i mellom, og de kan bevare fordelsaktige mutasjoner til tross for at de har systemer for reparasjon av endret DNA. Bakterier kan bevare sine resistente gener i ekstrakromosomale DNA-enheter eller i genomet (44).

#### **3.1. TYPER RESISTENS**

Antibiotikaresistens kan være iboende (naturlig) eller tilegnet. Bakterier med iboende resistens er i utgangspunktet ufølsomme for et antibiotikum; d.v.s. at de er insensitiv, for et antibiotikum uten at de først har tilegnet seg resistens v.h.a. mutasjoner eller lignende. Et typisk eksempel på bakterier med iboende resistens, er *E.colis* resistens mot vanlig penicillin G. Her hindrer yttermembranen penicillin i å komme inn i bakterien. Muligheten for å utøve hemmende virkning er dermed ikke til stede. Tilegnet resistens derimot, er noe bakterien har ervervet seg som en "tilleggsegenskap"; d.v.s. at bakterien har tilegnet seg en egenskap som normalt ikke ser hos denne typen bakterier. Det er denne nye egenskapen som igjen gjør bakterien resistent mot det antimikrobielle midlet (44, 12). Tradisjonelt deles tilegnet resistens inn i fem hovedkategorier (se tabell 3). Disse fem hovedkategoriene utgjør de såkalte biokjemiske resistensmekanismene:

Tabell 3. Resistensmekanismer mot antibiotika (19).

Resistensmekanisme	Eksempler
Nedsatt intracellulær antibiotika-konsentrasjon	
Økning av effluks	Tetrasykliner ( <i>tetA</i> -gen), erytromycin, kinoloner ( <i>norA</i> -gen), karbapenemer
Nedsatt permeabilitet i yttermembran for gramnegative staver pga. endrede poriner	Betalaktamer ( <i>ompF</i> , <i>oprD</i> -gener), kinolone: tetrasykliner, trimetoprim, kloramfenikol
Endret cellevegg	Påvirker opptak av ladete antibiotikamolekyler
Inaktivering av antibiotika	Betalaktamaser (hydrolyse) Aminoglykosidmodifiserende enzymer (acetyl-, fosfo- og nukleotidyl-transferase) Kloramfenikolinaktiverende enzym (acetyltransferase)
Endring av antibiotikas målmolekyl	Kinoloner (gyrase- og topoisomeraseforandringer) Rifampin (DNA-polymerasebinding) Makrolider (rRNA-metylering) Betalaktamer (endringer i genene til penicillinbindende proteiner) Glykopeptider ( <i>vanA</i> , <i>vanB</i> -gener) Trimetoprim (ny dihydrofolat reduktase) Sulfonamider (ny dihydropteroat syntase)

### 3.2. BIOKJEMISKE RESISTENSMEKANISMER:

#### 1. Endring av det antimikrobielle midlets angrepspunkt (Target Alteration)

Mange antibiotika utøver sin hemmende virkning ved å hemme bakteriens ribosomale eller spesifikke enzymfunksjoner. Om mutasjoner da oppstår i DNA som koder for dette enzymet eller ribosomet, vil strukturen kunne endre seg slik at det antimikrobielle midlet ikke lengre kan binde angrepspunktet og utøve sin hemmende virkning. Et eksempel på denne typen tilegnet resistens, finner vi hos rifampin-resistente tuberkulosebakterier. Her er en enkelt aminosyre byttet ut i bakteriens RNA-polymerase som følge av en mutasjon, og rifampin kan ikke lengre binde enzymet og inaktivere det. I mer sjeldne tilfeller har en sett at bakterier har tilegnet seg et helt nytt gen som koder for en substitutt for det tidligere angrepspunktet. Resultatet er et protein med en så lav affinitet for det antimikrobielle midlet at det umulig kan dannes et kompleks.



## **2. Reduksjon i konsentrasjonen av det antimikrobielle midlet**

Enkelte antimikrobielle midler tar seg inn i bakterien v.h.a. poriner i bakteriens cellemembran. Resistens kan således utvikles om mutasjoner oppstår i et av genene som koder for porinene eller om bakterien syntetiserer færre poriner for det antimikrobielle midlet å ta seg inn gjennom. Betydningen av denne resistensmekanismen er allikevel omdiskutert; en antar at færre eller endrede poriner kun innebærer en forsinkelse før terapeutiske doser av det antimikrobielle midlet allikevel oppnås intracellulært i bakterien (44).

Av større betydning er såkalte efflux-pumper hos enkelte resistente bakterier. Disse energiavhengige transmembranproteinene pumper aktivt ut det antimikrobielle legemidlet, og holder konsentrasjonen av legemidlet lavt inne i bakterien. Pumpene kan videre være medikament-spesifikke eller multi-medikament-pumper. Eksempler på slike efflux-pumper finner vi hos tetracyclin-resistente *E.coli*-bakterier og hos MRSA (28). Slike efflux-pumper antas å kunne oppstå ved blant annet horisontal genoverføring.

## **3. Enzym-inaktivering av det antimikrobielle midlet**

Enzym-inaktivering av antimikrobielle legemidler er en av de mest vanlige resistensmekanismer vi kjenner til. Det antimikrobielle legemidlet kan inaktiveres ved enzymatisk kløyving av eller ved kjemisk modifikasjon. Resultatet er et legemiddel som ikke lengre kan binde seg til angrepspunktet eller at det ikke lengre tas opp i den resistente bakterien p.g.a. sin endrede struktur. Et velkjent eksempel på dette er beta-laktamase-enzymet hos penicillin-resistente gram-positive bakterier (12).

#### **4. Endrede metabolske synteseveier**

Noen antimikrobielle midler utøver sin hemmende virkning ved å inhibere enzymer som er livsviktige for bakteriens vekst. Dersom bakterien allikevel klarer å produsere tilstrekkelige mengder av dette enzymet, vil den overleve. Dette kan den gjøre ved enten å øke produksjonen av enzymet (slik at konsentrasjonen overgår konsentrasjonen av legemidlet) eller ved å syntetisere enzymet via en alternativ syntesevei som legemidlet ikke er i stand til å hemme. Et eksempel på dette finner vi hos trimetoprim-sulfa-resistente streptokokker hvor bakteriene overlever thymidinmangel ved å produsere thymidin-nukleotider via en alternativ syntesevei (44).

#### **5. Unnlater å metabolisere det antimikrobielle legemidlet til dets aktive form**

Enkelte antibiotika, som for eksempel nitroimidazoler, må konverteres av *Bacteroides fragilis* til sin aktive form før den kan utøve sin hemmende virkning. Nitroimidazol-resistente *B. fragilis* unnlater å gjøre dette, og ettersom legemidlet ikke omdannes til sin aktive form, kan det heller ikke utøve sin inhiberende virkning (44).

### **3.3. GENETISKE RESISTENSMEKANISMER:**

Så hvordan oppstår og spres slik tilegnet resistens? For å forstå dette, er det nødvendig å se på hvordan bakterier dupliserer, hvordan de kan forflytte resistente gener og hvordan kan utveksle genetisk informasjon. Vi kjenner i dag til flere hovedmekanismer for genetisk utveksling mellom bakterier; såkalte genetiske resistensmekanismer. De genetiske resistensmekanismene sammenfatter i korthet mutasjoner samt tilegnelse av nytt DNA ved hjelp av konjugasjon, transformasjon eller transduksjon.

## 1. Plasmider og konjugasjon

Et plasmid er ekstra kromosommateriale (DNA) utenom "hovedkromosomene" (genomet) i bakterien. Et plasmid er oftest sirkulært. En bakterie kan ha noen få eller flerfoldige kopier av slike plasmider. Noen plasmider er små (såkalte r-plasmider), og noen er store (såkalte R-plasmider). I motsetning til r-plasmidene, kan R-plasmidene inneholde multiple resistensgener, og de har i tillegg evnen til konjugasjon. De små r-plasmidene koder vanligvis bare for resistens mot ett bestemt antibiotikum (44). Konjugasjon, eller "celleseks", innebærer at plasmidet har gener som gir det evnen til å overføre seg selv fra en bakteriecelle til en annen. Dette skjer ved hjelp av celle-til-celle-kontakt hvor en pilus fra giver-cella skaper en cytoplasmatiske forbindelse til mottaker-cella, og en kopi av plasmidet overføres til mottaker-cella. Slike konjugative plasmider med resistente gener kan spre seg raskt innenfor en bakteriepopulasjon. Men også r-plasmider kan spres; i de tilfeller hvor en bakterie har både R- og r-plasmider, kan r-plasmidet overføres til mottaker-cella ved hjelp av R-plasmidet. Dette kalles mobilisering. Samspillet mellom bakteriene i utvekslingen av resistente gener, påvirkes også av eventuell tilstedeværelse av antibiotika. Flere antimikrobielle midler har den uheldige egenskapen at de promoterer plasmidoverføring mellom ulike bakterier. Enkelte antibiotika har i så måte blitt kalt "bakterielle feromoner" i det de fremmer konjugasjon (1, 44).

Plasmidresistens er viktig, både fra et epidemiologisk og et klinisk perspektiv. Dette er blant annet fordi denne formen for resistens er overførbar, og at den kan innebære resistens mot flerfoldige antibiotika samtidig. Noen plasmider har for eksempel stedsspesifikke integrasjonssystemer som behjelper kapringen av resistente gener. Dette ser en blant annet hos multiresistente *E.coli* som innehar resistens mot ampicillin, kloramfenikol, kanamycin, streptomycin, sulfonamider og trimetoprim. Her ligger altså de nyervervede resistensgenene på rekke og rad inne i plasmidet, og kan ved hjelp av konjugasjon overføres til nye bakterier,- til og med til andre bakteriespecies. At en bakterie er døende er heller ikke til hinder for plasmidoverføring (1, 44).

## 2. Transposisjon, "hoppende gener" (transposoner)

Transposoner, eller "hoppende gener", er små, mobile DNA-segmenter lokalisert i bakterienes genom. De karakteriseres av små, korte endestykker med såkalte insersjonssekvenser som gjør at de lett kan integreres i nye DNA-sekvenser. Dette innebærer at de relativt enkelt kan flyttes fra genomet til et plasmid, fra ett plasmid til et annet eller fra et plasmid til et nytt genom. Dette kalles transposisjon, og utgjør hovedmekanismen for at flere resistensgener skal kunne hope seg opp i ett plasmid (20, 44).

## 3. Transduksjon

En bakteriefag er en viruspartikkel som kan infisere og lysere bakterier. Forenklet kan bakteriofagens livssyklus beskrives som følgende; bakteriofagen infiserer bakterien ved å inkorporere sitt DNA i bakteriens kromosomale eller ekstrakromosomale DNA. Deretter produseres nye bakteriofager ved at bakteriofagens DNA replikeres og pakkes inn i separate fag-kapsider. Normalt inneholder fag-kapsidene kun bakteriofagens DNA. Ved vertscellens destruksjon, slippes så de nye viruspartiklene ut i det omgivende medium, og kan infisere nye bakterier. Ved transduksjon derimot, får de nye viruspartiklene med seg arvestoff fra forrige vertscelle p.g.a. "feilpakking". Når så viruspartiklene møter på en ny vertscelle, vil dette arvestoffet bli injisert i cellen som om det var virus-DNA. Om arvestoffet innehar resistente gener, vil en antibiotikaresistent bakterie kunne oppstå, og i neste omgang bidra til ytterligere spredning av resistens (1, 44).

Betydningen av transduksjonsmekanismen som spreder av resistens, har vært omdiskutert. Dette skyldes blant annet at bakteriofager ikke kan infisere alle bakteriespecies og at DNA-segmentene som overføres, vanligvis er svært små (50 kbp) sammenlignet med for eksempel de multiple resistensgenene en kan finne i R-plasmider. Allikevel vet vi at transduksjon har spilt en sentral rolle hos enkelte

resistente bakterier som for eksempel penicillin-resistente stafylokokker. I dette tilfellet har bakteriene i all hovedsak tilegnet seg beta-laktamase-genene via bakteriofag-mediert transduksjon (44).

#### 4. Transformasjon

Sist, men ikke minst bør det nevnes at noen bakterier har evnen til å ta opp fritt, uinnpakket DNA fra omgivelsene og integrere det i sitt eget genom. Dette fenomenet kalles transformasjon. Det er da som oftest DNA fra nært beslektede organismer som tas opp, og genene i dette innkomne DNA`et kan da erstatte de tilsvarende genene hos mottageren ved at det rekombineres inn som en del av vertscellens kromosomale DNA. (Dersom bakterien tar opp DNA fra fjernt beslektede organismer, vil som oftest ikke rekombinasjon kunne finne sted, og DNA`et degraderes i stedet.) Den nye integrerte sekvensen kan inneholde en bestemt genetisk markør, som for eksempel antibiotikaresistens. Den nye genkonstellasjonen nedarves vertikalt til cellens datterceller (1, 44). Eksempler på bakterier vi vet kan ta opp fritt DNA fra sine omgivelser er blant annet *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* og *Neisseria gonorrhoeae* (44).



## **4. UTVIKLINGEN AV ANTIBIOTIKARESISTENS OG SITUASJONEN I DAG.**

For omtrent 20 år siden var vi svært godt rustet i kampen mot infeksjonssykdommene. Trodde vi. I dag har vi måttet erkjenne at kampen mot mikrobene ennå ikke er vunnet. Selv om vi i stor grad behersker fryktede sykdommer som for eksempel kopper, polio og kikhoste, har vi måttet innse at bekjempelsen av mikrobene ikke er så enkel som først antatt. Multiresistente bakterier er bare en del av problemet, men infeksjonssykdommene innbefatter også uforutsette jokere som AIDS, Ebola, Creutzfeldt-Jacob og SARS. Selv om disse sykdommene ikke involverer antibiotikaresistens direkte, har de vist oss at mikrobenes motangrep like gjerne kan komme fra uventet hold. Vi er i dag klar over at antibiotikaresistens utgjør en potensielt omfattende trussel mot oss som mennesker, og spesielt dette gjør det viktig for oss å skaffe til veie kunnskap på området, både når det gjelder antibiotikaresistensens begynnelse, utvikling, progresjon og fremtid (45).

### **4.1. ANTIBIOTIKARESISTENSENS BARNDOM.**

Vi vet i dag en hel del om hvordan antibiotikaresistens tas opp og overføres fra bakterie til bakterie. Men hvor og hvordan debuterte denne resistensen i utgangspunktet? Svaret er komplisert og noe flertydig. Noen av resistensmekanismene er resultater av tilfeldige mutasjoner som gir den enkelte bakterie fordeler i konkurransen med andre mikroorganismer. Andre resistensgener har vist seg å stamme fra bakterier i jord og vann (20). Disse bakteriene må overleve og leve sammen med blant annet andre mikrober som produserer antimikrobielle stoffer, og som selekteres fram under antibiotikaseleksjon. For i det hele tatt å overleve under slike livsbetingelser, må disse bakteriene inneha et visst nivå av resistens. Mange bakterier kan utveksle DNA med jord- og vannbakterier, og man antar derfor at mange resistensgener nettopp har kommet fra bakterier i slike miljøer. Samtidig har nok også vår tids antibiotikabehandling bidratt til spredningen av disse resistensgenene. Når antibiotika isoleres fra antibiotikaproduserende mikrober kan resistensgener isoleres i samme fraksjon. Dermed kan antibiotika, ironisk nok, være kontaminert med DNA som koder for resistensgener. Dette øker igjen bakterienes mulighet for genetisk utveksling med påfølgende resistensutvikling. Vi

vet også at enkelte undergrupper av *Staphylococcus aureus*, produserte beta-laktamase før penicillin ble oppdaget. I dette tilfellet antar en at lysozymer i nasale sekresjoner kan ha drevet fram resistensutvikling og selektivitet med beta-laktamase som resultat (20).

#### **4.2. BRUK OG MISBRUK AV ANTIMIKROBIELLE MIDLER I DAGENS SAMFUNN.**

Naturlig seleksjon er drivkraften bak utviklingen av resistente bakterier. Noen av de første resistente bakteriene vi kjenner til, dukket opp nærmest umiddelbart etter at penicillin ble oppdaget og anvendt i 1928. Vi kjenner i dag til flere faktorer som påvirker denne utviklingen, deriblant ”uvettig” bruk av antibiotika. Vi skal se litt nærmere på hva legen og pasienten kan gjøre feil når antibiotika gis, og hvordan dette bidrar til resistensutvikling:

##### **- For lav dosering av det antimikrobielle legemidlet**

Forenklet kan en si at resistens oppstår på følgende måte når doseringen av det antimikrobielle legemidlet er for lavt; enkelte av bakteriene vil i utgangspunktet være mer hardføre sammenlignet med de andre bakteriene som er med på å skape infeksjonen. Når så et antibiotikum gis, vil dette drepe de minst hardføre mens de mest hardføre overlever. I neste omgang vil de mest hardføre bakteriene duplisere og ekspandere da den naturlige konkurransen om livsvilkårene ikke lenger er til stede. Resultatet kan i verste fall være at de mest motstandsdyktige bakteriene gir en videre infeksjon som er verre å behandle enn den forrige. Den samme problemstillingen sees om en antibiotikabehandling avsluttes for tidlig; da drepes de minst motstandsdyktige bakteriene mens de mest motstandsdyktige lever videre (38).

### **- Bruk av bredspektrede antibiotika**

Bruk av bredspektrede antibiotika hemmer store deler av normalfloraen mens mer motstandsdyktige bakterier stammer overlever. Som nevnt tidligere kan også mange antibiotika virke som "feromoner". Det vil si at bakteriene blir *mer* mutagene eller i større grad utveksler overlevelsesinformasjon når de utsettes for "stress" som for eksempel et antimikrobielt middel. Dette øker i neste omgang også sjansen for at multiresistente bakterier skal kunne overføre genpartier til andre bakterier, og på den måten bidra til resistens mot mange ulike antibiotika (38).

Noe av den samme problemstillingen sees i de tilfeller hvor en gir galt antibiotikum eller når en gir antibiotika mot noe som viser seg å være en viral infeksjon. I land hvor antibiotika for eksempel ikke har vært reseptbelagt (og pasienter har tatt antibiotika mot for eksempel virale infeksjoner), er resistensproblematikken generelt større enn i de land hvor dette ikke har vært vanlig. Slik praksis fører gjerne også med seg mer vidstrakt bruk av antibiotika, og bidrar til resistensutviklingen (38).

### **4.3. BRUK AV DESINFISERINGSMIDLER OG ANTISEPTIKA.**

Men antibiotika er ikke de eneste antimikrobielle midlene som "overforbrukes" i dag. Bruken av antimikrobielle midler som for eksempel desinfiseringsmidler og antiseptika, har også akselerert (38). På sykehus inngår slike antimikrobielle midler i såper og operasjonsklær, men i løpet av de siste årene, har de også blitt blandet inn i såper, kremer og oppvaskmidler til den "vanlige" forbrukerfamilien. De har til og med blitt impregnert i forbrukerprodukter som leker, madrasser og skjærfjølere (!) (38). Det fins så langt ingen beviser for at en slik tilsetning av antibakterielle midler til husholdningsprodukter skal kunne forhindre infeksjoner eller sykdom. Derimot synes markedsføringen og salget av disse produktene å vekke unødig engstelse hos forbrukeren hva helse og hygiene angår. I likhet med antibiotika, kan bruk av slike antibakterielle midler i husholdningen endre sammensetningen av bakteriefloraen rundt oss. Samtidig som de dreper følsomme bakterier, promoterer de veksten av motstandsdyktige bakterier (38). Disse motstandsdyktige bakteriene inkluderer ikke bare bakterier som har vært til stede "hele tiden", men også resistente bakterier som ikke tidligere har klart å få fotfeste i vår umiddelbare nærhet på grunn av konkurransen fra andre bakterier. Det er kanskje nettopp



disse sistnevnte bakteriene som burde være grunn til bekymring. Når de først har fått sjansen til å multiplisere seg, økes sjansen for infeksjon (38).

Overforbruk av antibakterielle midler vekker også bekymring i andre henseende. Som kjent er det ofte bakterienes plasmider som bærer med seg de genene som koder for antibiotikaresistens. Det samme gjelder for de genene som koder for resistens mot antiseptika og desinfiseringsmidler. Dermed kan det å fremme veksten av slike plasmidbærende bakterier, faktisk fremme *dobbel* resistens; *både* mot antibiotika og antiseptika/desinfiserende midler (38). Jevnlig husrengjøring er selvsagt nødvendig, men ”vanlige” såper og vaskemidler (uten antibakterielle tilsetningsmidler), er tilstrekkelig for å minske antall potensielt sykdomsfremkallende bakterier rundt oss. Om vi overdriver og forsøker å skape en steril omverden, kan resultatet snarere bli et miljø hvor vi må leve side om side med svært hardføre bakterier som også kan være resistente mot antibiotika (38). Dette vil igjen slå tilbake på oss når vi for eksempel blir syke eller av en eller annen grunn har svekket immunforsvar. Det er i disse tilfellene vi virkelig har behov for å desinfisere hendene og hjemmene våre, men møter i stedet hovedsakelig resistente bakterier,- som ikke så lett lar seg fjerne med lut og såpevann. Det vil ikke være til det beste for noen om vi gjør hjemmene våre til det sykehusene ofte er; en tumleplass for hardføre sykdomsfremkallende bakterier.

#### **4.4. BRUK AV ANTIMIKROBIELLE MIDLER I LANDBRUKET OG VETRINÆRTJENESTEN.**

Det er ikke bare i husholdningen at antibakterielle midler overforbrukes. Til tross for stadig bredere kunnskap om hvordan antibiotikaresistens oppstår og spres, er bruken av antibiotika i landbruk og veterinærtjenesten fremdeles svært utbredt. I USA for eksempel, gis 40% av all antibiotika som blir produsert til dyr (mot cirka 15% i Norge) (27, 38). En del av denne mengden, gis i behandlingsmessig eller profylaktisk hensikt, men mesteparten blir blandet inn i dyrenes fôr for å fremme vekst. Vanligvis gis da for små doser til å bekjempe infeksjon, og dyrene føres med dette i uker til måneder ad gangen. Ingen er helt sikre på hvordan denne medisineringsen promoterer vekst. Men en ting er sikkert; denne langvarige eksponeringen for lave antibiotikadoser er den perfekte formelen for å produsere nye

resistente bakteriestammer (38). Og i neste omgang spres disse resistente bakteriene til for eksempel bønder, slakterne og kanskje spesielt til de av oss som spiser dårlig stekt kjøtt.

I landbruket i blant annet USA, blir for eksempel frukttrær sprøytet med antibiotika for å unngå bakterielle infeksjoner. Høye doser antibiotika kan drepe nærmest alle bakteriene i trærne på det tidspunktet sprøytingen foregår, men senere vil restene av det antimikrobielle midlet kunne promotere vekst av resistente bakterier som koloniserer frukten under høstingen og frakten. Sprøytningspartiklene treffer dessuten mer enn bare frukttrærne. De bæres gjerne av gårde over lange avstander til andre trær og matplanter hvor det antimikrobielle sprøytningsmidlet er alt for uttynnet til å eliminere eventuelle infeksjoner. Det er allikevel i stand til å ta knekken på sensitive, mindre hardføre bakterier og slik skape grunnlaget for at nye resistente bakteriestammer skal kunne blomstre opp. Igjen kan disse bakteriene skape sykdom hos oss mennesker ved at de inntas som fødemiddel (38).

Men bør da all bruk av antibiotika reduseres til et absolutt minimum? Ikke nødvendigvis, men om vi ønsker å beholde makten over patogenene, må vi også bli mer ansvarsfulle og bevisste i bruken av antibiotika. Så lenge antibiotika benyttes for å bekjempe sykdom, kan kanskje en liten økning av resistente bakterier godtas. En økning som følge av unødvendig antibiotikabruk er derimot uakseptabel.

#### **4.5. MULIGE TILTAK I KAMPEN MOT ANTIBIOTIKARESISTENS.**

Det finnes en rekke tiltak vi kan sette i verk *i dag* for å reversere resistensutviklingen. Land som USA bør for eksempel se på alternativer til antibiotika når det gjelder beskyttelse av landbrukets frukttrær og stimulering av vekst hos storfe. Relativt enkle tiltak som for eksempel å bedre hygien og øke trivselen hos dyrene, kan fremme både vekst og utvikling betraktelig (38). Økonomisk støtte til økologisk jordbruksdrift og kjøp av økologiske varer, kan i så henseende være viktige bidrag fra myndigheter og forbrukere. Forbrukerne bør dessuten vaske frukt og grønnsaker før de spises, fullføre antibiotikabehandlingen etter legens råd og ikke selvmedisinere seg med rester av tidligere antibiotikabehandlinger. En bør heller ikke "kreve" antibiotikabehandling ved vanlige forkjølelser eller andre virale infeksjoner,- og

legen bør selvsagt ikke skrive ut antibiotika i slike tilfeller. En kan gjerne smøre antibiotiske salver på små kutt og lignende, men ikke jevnlig bruke fuktighetskremer og lignende tilsatt antimikrobielle midler. Leger bør videre begrense utskrivningen av bredspektrede antibiotika, og heller forsøke å identifisere patogenet, og deretter gi det antimikrobielle midlet som best bekjemper patogenet. For å hindre spredning av multiresistente bakterier fra en sykehuspasient til en annen, bør en fortsette å isolere sykehuspasienter med multiresistente bakterieinfeksjoner. Som lege bør en også holde seg orientert om resistensproblematikken i nærregionen, og som for alt annet helsepersonell, er selvsagt håndhygienens særdeles viktig, - noe som dessverre ikke alltid gjenspeiler seg i virkeligheten. For leger er det også viktig at de orienterer sine pasienter om farene ved "uvettig" antibiotikabehandling, - det er ofte lettere å følge legens råd når en forstår tankegangen bak rådene (12, 38).

Men i bekjempelsen av resistensutviklingen i dag, er også det internasjonale samarbeidet svært viktig, - både med tanke på forskningssamarbeid og epidemiologisk kartlegging og overvåkning. Resistensutviklingen i dag er et globalt problem like mye som et nasjonalt og lokalt problem. Resistente bakterier kjenner ingen landegrenser, og i større grad enn noen gang, kan mikrober spres over store deler av verden på svært kort tid ved hjelp av for eksempel reisende, import/eksport og annen internasjonal trafikk. I tillegg står også verden i dag overfor trusselen om at farlige mikrober kan spres ved for eksempel terrorisme. USA fikk en forsmak på denne biologiske terroren da brev med miltbrannsporer sirkulerte i tidsrommet etter 11. september 2001. Det har tatt tid, men det kan se ut som at trusselen fra både nye og gamle mikroorganismer gradvis tas mer alvorlig av både forskere, leger og internasjonale organisasjoner. Noe av det viktigste er å oppdage nye smittsomme sykdommer i tide. WHO har derfor etablert et overvåkningssystem i nært samarbeid med helsemyndighetene i de enkelte landene. Dette er riktignok ikke noe nytt, men tidligere måtte meldinger om sykdomsutbrudd først gjennom et system av lokale og nasjonale myndigheter før de nådde WHO (45). Nå brukes blant annet internett til å avdekke meldinger om at en smittsom sykdom har begynt å bre seg. Nærmere halvparten av sykdomsutbruddene som WHO oppdager og undersøker hvert år, er fanget opp av dette nye overvåkningssystemet (45). Dette betyr at man sparer en hel del verdifull tid.

Mye av tankegangen har endret seg siden penicillin ble oppdaget for godt og vel et halvt århundre siden. I stedet for å fokusere på å utrydde bakteriene rundt oss, er det kanskje på tide at vi aksepterer bakteriene rundt oss som normale, fordelsaktige komponenter i våre

omgivelser,- med unntak av når de forårsaker sykdom. Vi må erkjenne at den rette sammensetningen av bakterier kan *beskytte* oss mot sykdom, og at nøkkelen til å stanse resistensutviklingen til dels ligger i vår egen kunnskap om konsekvensene av rett og gal antibiotikabruk. Vi kan ikke bare fokusere på å kurere bakterielle infeksjoner. Vi må også tenke på å bevare de mikrobene som vanligvis ikke er sykdomsfremkallende. Det er disse bakteriene som er patogenenes viktigste konkurrenter,- og i så måte en av våre viktigste støttespillere i kampen mot infeksjonssykdommene.



## 5. STAFYLOCOCCUS AUREUS' MIKROBIOLOGI.

### 1. Karakteristika.

*Staphylococcus aureus* er en fakultativt anaerob, koagulase-positiv kokk. Den er grampositiv og ligger i klynger, noe som reflekterer dens evne til å dele seg i mer enn et plan (40).

### 2. Historikk.

Stafylokokker ble først observert og dyrket i kultur av Pasteur og Koch, men de første detaljerte studiene på stafylokokker ble gjort av Ogston i 1881 og Rosenbach i 1884 (Ogston, 1881; Rosenbach, 1884) (63). Genuset *Staphylococcus* fikk sitt navn av Ogston i 1881 da han observerte de drueklaselignende bakterieklynger i puss fra humane abscesser. Tre år senere var Rosenbach i stand til å isolere og dyrke disse bakteriene i ren kultur. Han ga bakteriene navnet *Staphylococcus aureus* da de hadde en gul-orange/ gylden pigmentering i kolonier. Rosenbach beviste at *S. aureus* var ansvarlig for sårinfeksjoner og furunkoloser (Rosenbach 1884), og at *Staphylococcus epidermis* var en bakterie som normalt koloniserte hud (14, 46, 63). *S. aureus* er i dag en hyppig årsak til infeksjoner hos mennesker; både i og utenfor sykehus, og i den preantibiotiske æra var *S. Aureus* kjent som et meget farlig, livstruende patogen.

### 3. Patogenese.

Infeksjoner skapt av *S. aureus* karakteriseres av en intens suppurativ inflammasjon i det infiserte vevet. De vanligste infeksjoner skapt av *S. aureus* er furunkler (lokalisert, smertefull, overfladisk hudinfeksjon som utvikler seg i hårfollikler/-kjertler). Det inflammete området kan innkapsle seg, og dermed føre til abscessdannelse (karbunkler). Mange mennesker er konstant koloniserte av *S. aureus*, og mange av disse har kronisk furunkulose. Andre infeksjoner som forårsakes av *S. aureus* er impetigo, postoperative sårinfeksjoner (overfladiske og dype), Staphylococcus scalded skin syndrome (SSSS), kateterassosiert

infeksjon, matbåren infeksjon (stafylokokkale enterotoksiner), bakteriemi, sepsis, endokarditt, toksisk sjokk syndrom, osteomyelitt, pneumoni, meningitt og abscesser i muskler, urogenitaltraktus, CNS og i forskjellige intraabdominale organer (41, 53, 56, 63).

#### **4. Transmisjon.**

Normalt habitat for *S. aureus* er menneskers hud, spesielt i vestibulum nasi og perineum. Bærerstatus er hyppigere hos sykehusansatte og pasienter innlagt på sykehus. En smittebærer har ingen kliniske tegn på stafylokokkinfeksjon, selv om han eller hun er kolonisert av bakterien, men vedkommende representerer et smittereservoar. Bakterien kan spres gjennom direkte eller indirekte kontakt og gjennom luftbårne ruter. Den viktigste transmisjonsrute i sykehus er overføring fra en pasient til en annen via personalets hender (indirekte kontakt). Smittespredning via luft kan for eksempel skje i intensiv- og brannskadeavdelinger. Organismen overlever tørking og er tolerant for salt og nitritt (40, 41, 52, 53).

#### **5. Virulensmekanismer.**

*S. aureus* har mange virulensmekanismer og representerer evolusjonen av et veladaptert humant patogen. *S. aureus* har evnen til å kolonisere verten på en trygg måte og dens kapasitet til å erverve og å bytte genetisk informasjon er faktorer som bidrar til dens patogene suksess (13, 24, 59). Virulensen og spredningspotensialet hos MRSA er like varierende som hos meticillinfølsomme *S. aureus*. MRSA-infeksjoner medfører imidlertid økt sykkelighet og økt letalitet sammenlignet med MSSA-infeksjoner.

*S. aureus*' virulensfaktorer kan generelt deles inn i to hovedklasser;

1. Overflateassosierte faktorer
2. Sekretede faktorer (ekstracellulære proteiner som enzymer, toksiner og enzymaktivatorer).

Celleassosierte faktorer bidrar med mekanismer for bakteriens evne til adheranse og å sette immunforsvaret ut av spill. Eksempler på disse er: polysakkaridkapsel, mucopeptid, protein A, fibronectin-bindende-protein og kollagenbindende proteiner.

Polysakkaridkapselen beskytter cellen mot fagocytose, og er viktig for bakteriens evne til å binde seg til syntetiske materialer (40, 41, 56). Protein A binder seg uspesifikt til Fc-regionen på humane IgG1,2 og 4, og dette forhindrer at bakterien gjenkjennes av vertens immunforsvar. Fibronectin- og Kollagenbindende proteiner, letter bakteriens binding til humane celler og syntetiske materialer (40).

Eksempler på ekstracellulære proteiner er enterotoksiner (SE), epidermiolytisk toksin (Exfoliatin A og B, ETA og ETB), toxic shock syndrome toksin-1 (TSST-1), membranskadende toksiner (hemolysiner), leukocidin, coagulase og stafylokinase (40).

Enterotoksiner forårsaker intoksikasjon og matforgiftning hos mennesker, og 95 % av stafylokokkal matforgiftning hos mennesker forårsakes av SE-typene SEA–SEE (56). ETA og ETB forårsaker Impetigo Bullosa og SSSS (Stafylococcal scalded Skin Syndrome).

TSST-1 hører med i gruppen av pyrogene toksiner, og forårsaker feber og sjokk hos verten. Disse toksinene er såkalte superantigener, noe som innebærer at de kan binde seg til MHC klasse II molekyler og kan stimulere T-celler direkte (må ikke presenteres av MHC klasse I eller II på antigenproduserende celler for å kunne aktivere T-cellene). På denne måten stimulerer disse superantigenene T-cellene til å frigjøre cytokiner som skader celler og vev hos verten.

Panton-Valentin-Leukocidin (PVL) samarbeider med hemolysiner av forskjellig slag, og dreper leukocytter ved å lage porer i deres cellemembran (56). Lipaser produseres av alle *S. aureus* og hydrolyserer triglycider, fosfatidokoliner og lysofosfolipider som ledd i koloniseringsprosessen av huden hos den humane vert. Hyaluronidase produseres av *S. aureus* og er et glykoprotein som hydrolyserer mukopolysakkariden hyaluronate. Dermed lettes nedbrytningen av vevsbarrierer hos verten og invasiviteten til *S. aureus* økes (17, 40, 47).

Noen stammer av *S. aureus* produserer proteinet stafylokinase. Dette enzymet aktiverer det fibrinolytiske system ved å omdanne plasminogen til plasmin, noe som medfører nedbrytning av fibrinkoagler (40). Stafylokinase har dermed et terapeutisk potensial, på lik linje med det velkjente streptokinase (56).

Noen stammer av *S. aureus* har evnen til å kolonisere overflaten av fremmede legemer, for eksempel humane proteser, ved å danne en tykk, flerlaget biofilm på overflaten av objektet. Adherente bakterier vokser sakte og dette, og andre mer ukjente faktorer, medfører dermed store problemer med å behandle infeksjonen med antibiotika (56).

De sekreerte faktorene forårsaker altså vevsdestruksjon og motvirker vertscelleresponser. Noen virulensfaktorer er tilstede i alle stammer, som for eksempel mucopeptid, mens de resterende faktorer er tilstede i noen stammer, men ikke alle (40).

Rollen av mange virulensfaktorer i patogenesen har etter hvert blitt utelukket, mens andre spiller en ukjent, men gjerne viktig rolle i infeksjonsprosessen.

## **6. Antibiotika.**

Hvis infeksjoner med *S. aureus* krever antibiotikabehandling, benyttes hovedsakelig penicillin, penicillinastabile penicilliner og andre preparater som clindamycin, vancomycin og fusidinsyre (steroidantibiotikum). I dag er cirka 70 % av *S. aureus* resistente mot penicillin (over 80 % av sykehusisolater) på grunn av evnen til å produsere betalaktamase, og dette medfører i praksis at betalaktamasestabile penicilliner blir førstehåndspreparat (11, 40, 50).





## **6. MRSA. Introduksjon.**

MRSA er forkortelsen for **M**eticillin **R**esistente *Staphylococcus Aureus*. Man kan også si at uttrykket refererer til en gruppe multiresistente gule stafylokokker, som er resistente mot alle typer betalaktam-antibiotika (4, 40, 63). MRSA fikk sitt navn fordi meticillin var det første betalaktamasestabile penicillin som det ble påvist resistens mot.

Forekomsten av MRSA-infeksjoner er et økende problem både nasjonalt og internasjonalt. Prevalensen har stor geografisk variasjon, og reflekterer blant annet de ulike landenes antibiotikapolitikk gjennom de siste årtiene. Forekomsten er fremdeles lav i Norden og Nederland, mens den i USA og fjerne Østen har begynt å nå kritiske høyder (41, 42, 56, 61).

Prevalensen av MRSA-infeksjoner har økt betydelig i de fleste land de siste 10-15 årene. Infeksjonene opptrer særlig på sykehus og de medfører økt sykkelighet, økte kostnader og høyere dødelighet.

MRSA kan replikere under terapeutiske doser metylpenicilliner og andre betalaktamantibiotika. Resistensmekanismen ligger i en endring av det antimikrobielle midlets angrepspunkt (forandring i målsetet), nærmere bestemt produksjon av et addisjonelt penicillin-bindende protein (PBP); PBP2a (13, 15, 19). PBP2a gjør hele gruppen av betalaktam antibiotika uvirksomme mot MRSA fordi dette proteinet har lav affinitet for betalaktamantibiotika. PBP er et biosyntetisk enzym, nærmere bestemt en transpeptidase, som kryssbinder peptidoglykaner i celleveggen og som dermed gir bakteriecellen struktur og osmotisk stabilitet (61). Meticillinsensitive *S. aureus*, MSSA, inhiberes av oxacillin i konsentrasjoner fra 4 mikrogram/mL eller meticillin i konsentrasjoner fra 8 mikrogram/mL. *S. aureus* som har tilegnet seg meticillin-resistens (MRSA) derimot, har muligheten til å vokse i medier som inneholder alt i fra 16 til 2000 mikrogram/mL meticillin (61).

I dag finnes MRSA på sykehus i de fleste land verden over. Kliniske MRSA-infeksjoner er vanligst hos pasienter som er innlagt på intensivavdelinger på sykehus og på aldershjem og andre institusjoner som tar hånd om kronisk syke pasienter (41, 46).

Glykopeptidantibiotika som vancomycin og teicoplanin, har inntil nylig vært effektive i behandlingen av infeksjoner forårsaket av MRSA. Det har imidlertid blitt rapportert om nedsatt følsomhet også for vancomycin, og i 2002 meldte det amerikanske folkehelseinstituttet, CDC (Centers of Disease Control), om to uavhengige, kliniske tilfeller med høygradig vancomycinresistens hos gule stafylokokker (61). Mikrobiologiske prøver fra sårene hos de aktuelle pasientene, viste at deler av resistensgenene hos de aktuelle stafylokokkene var identiske med resistensgener hos enterokokker som befant seg i samme sår. Disse isolatene av *S. aureus* inneholdt både *mecA* og *vanA*; gener som medierer resistens mot henholdsvis meticillin og vancomycin. Tilstedeværelsen av *vanA* tyder på at resistensdeterminanten er ervervet fra en vancomycinresistent enterokokk. Det dreier seg altså om en type overførbar resistens (53).

I den påfølgende del av oppgaven vil vi gå nærmere inn på hvilke mekanismer som ligger til grunn for resistensutviklingen hos MRSA, hvordan uttrykket av meticillinresistens reguleres og hvilke teorier en i dag har vedrørende meticillinresistensens opprinnelse.



## 7. MOLEKYLÆR OG BIOKJEMISK BASIS FOR METHICILLIN-RESISTENS HOS STAFYLOCOCCUS AUREUS.

### 7.1. MEKANISMER FOR RESISTENS MOT METICILLIN.

Man kjenner i dag til fire mekanismer for resistens mot meticillin; økt produksjon av betalaktamase, nedsatt bindingsaffinitet mellom penicillinet og bindingsproteinene (target alteration), økt produksjon av PBP og produksjon av PBP2a.

Under økt selektivt trykk, har *S. aureus* utviklet multiple resistensmekanismer både mot penicilliner og modifiserte penicilliner, meticillin inkludert. Selv om meticillin er resistent mot hydrolyse av små mengder av stafylococcal betalaktamase, har man isolert stammer av *S. aureus* som kan produsere store mengder betalaktamase (61).

Disse såkalte hyperproducentene av betalaktamase overlever meticillin gjennom begrenset hydrolyse av antibiotikaen, noe som resulterer i en fenotype som er intermediaær mellom susceptibel og resistent (7, 56, 61).

Den andre resistensmekanismen *S. aureus* har utviklet for lavgradig resistens mot meticillin, involverer produksjonen av en forandret form av den opprinnelige PBP (target alteration). *S. aureus* uttrykker fire forskjellige opprinnelige penicillinbindende proteiner; PBP1, 2, 3 og 4. PBP1, 2 og 3 har en høy molekylvekt, mens PBP4 har lav molekylvekt (41, 53, 56). Betalaktamantibiotika fungerer som substrat-analoger som binder PBP's kovalent, og inaktiverer dem i en konsentrasjon nær MIC (minimal inhibitory concentration). Bindingen av betalaktamantibiotika til PBP medfører at bakteriecellen gjennomgår en lytisk reaksjon som medfører dens død (56, 61). Lavgradig resistens mot betalaktamantibiotika kan være forårsaket av enten nedsatt bindingsaffinitet mellom penicilliner og bindingsproteinene eller en økning i produksjonen av proteinbindende proteiner, eller begge deler (41).

Den mest prevalente og effektive mekanismen bakteriene har for å oppnå meticillin-resistens står imidlertid ervervelsen av *mecA* (i SCC<sub>mec</sub>) for. Dette genet koder for PBP2a, som er en høymolekylær vektform av PBP som har lav affinitet for betalaktamantibiotika (61). Dette vil vi gå nærmere inn på i den påfølgende delen av oppgaven.

## 7.2. SCC *mec* .

MRSA har ervervet et stort, mobilt DNA-fragment på 21 til 67 kilobasepar (kb) som kalles ”Staphylococcal Cassette Chromosome *mec*”, SCC*mec* (også kalt *mec* DNA). SCC*mec* er en gruppe mobile DNA-elementer som er integrert inn i kromosomet til MRSA på et spesielt sted; *attB<sub>scc</sub>/orfX*, som ligger nært området i kromosomet der replikasjonen foregår (29, 56).

SCC*mec* blir betraktet som en ”antibiotikaresistens-øy” som bærer *mec* gen komplekset, som koder for betalaktamresistens, og elementer som regulerer dets uttrykk. Dette DNA-fragmentet forekommer ikke hos MSSA. SCC*mec* inneholder *mecA*, som er det strukturelle genet for et lavaffinitets penicillinbindende protein, PBP2a og *mecI* og *mecR1* som er regulerings-elementer som kontrollerer transkripsjonen av *mecA*. I tillegg til dette inneholder det også 20-45 kb av *mec*-assosiert DNA. Det *mec*-assosierte DNA inneholder forskjellige transposoner og ”insertion elements”. Dette forklarer den store variabiliteten som finnes innen *mec*-regionen (40, 56). Se figur 2.

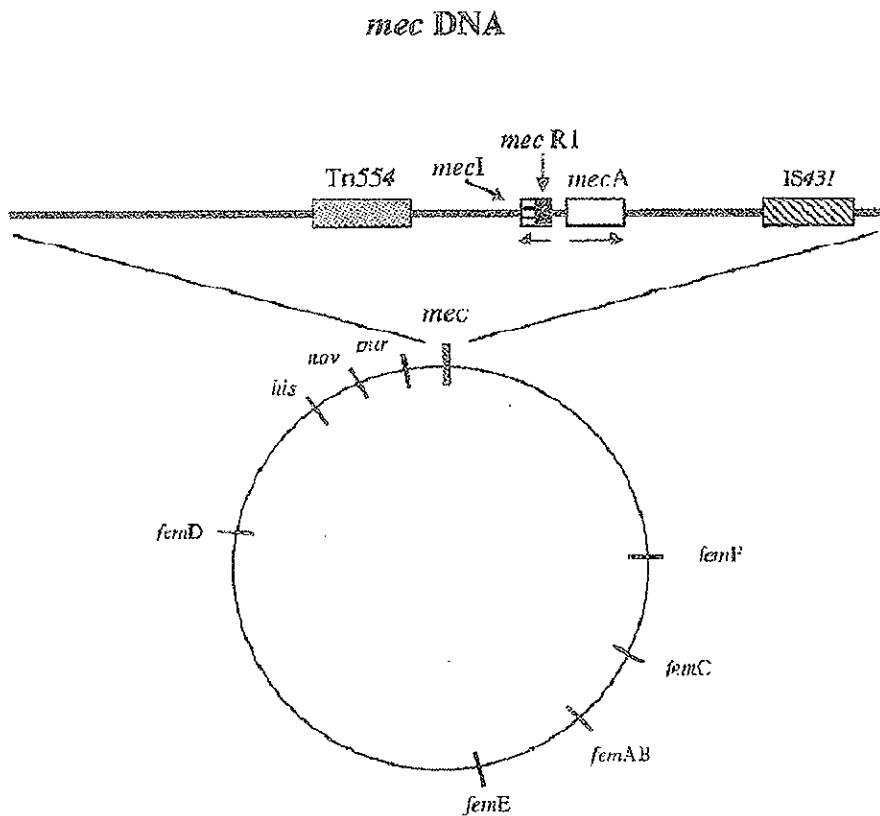
SCC*mec* karakteriseres av terminale inverterte og direkte ”repeats”, et sett med spesifikke kassett kromosom rekombinase-gener, A- og B- genpar, *ccrA* og *ccrB* og *mecA* gen komplekset. Kasset-kromosom-rekombinase A og B genparene koder for rekombinaser fra invertase-solvase familien, og er ansvarlig for bevegelsen av SCC*mec* (22, 29).

Man kjenner til fire varianter, SCC*mec* I til IV, som alle er forskjellige i størrelse, organisering og i andre gener de bærer (56). De klassifiseres etter kombinasjonen av type 1, 2 eller 3 *ccrAB* gen par og klasse A, B, C eller D *mec* komplekser. Klassifikasjonen av den sistnevnte defineres etter den genetiske organisasjonen av de regulatoriske genene, *mecR1* og *mecI*, i *mec* komplekset (56). I tillegg inneholder SCC*mec* også transposoner og integrerte kopier av plasmider som bærer forskjellige resistensgener mot ikke-betalaktamantibiotika.

Minst ett ”insertion” element(det kan være flere, avhengig av hvilken stamme *S. aureus* det er snakk om), IS431, er lokalisert innen SCC*mec* og fungerer som et integreringspunkt for IS431-assosierte plasmider og transposoner, ved hjelp av homolog rekombinasjon. Dette medfører akkumulering av addisjonelle resistensdeterminanter i dette elementet (48). IS431 er en veldig vanlig ”insertion”-sekvens i det stafylokokkale kromosomet og i plasmider, og er et element som har evnen til å fange og samle opp resistensdeterminanter med like IS-elementer

(gjennom homolog rekombinasjon). Dette forklarer langt på vei den multiple medikament resistensfenotypen, som er karakteristisk for meticillinresistente stafylokokker (40, 56, 51).

SSC*mec* I fra NCTC 10442 ble oppdaget i et MRSA-isolat i England. SCC*mec* type II var fra et japansk isolat (NI35), og var vidt distribuert blant MRSA i Japan i 1990-årene. Type III var fra 85/2082 i 1985 i New Zealand og Type IV a og b fra isolatene CA05 og 8/6-3P. De to siste isolatene var fra miljøerhvervede infeksjoner. I motsetning til de andre tre isolatene er type SSC*mec* IV mindre og mangler gener som koder for resistens til ikke-betalaktam antibiotika (22, 29, 48, 56).



Figur 2. Organisering av *mec* DNA (SCC*mec*) og kromosomal lokalisasjon. Adaptert fra referanse nr. 20.

### 7.2.1. *mecA* og PBP2a.

*mecA* er et induserbart gen som koder for PBP2a-polypeptiden. Dette genet bæres som nevnt i forrige seksjon, på store seksjoner av kromosomalt "inserted" DNA, SCC*mec*(20, 24, 25)..

Det finnes ingen homolog *mecA* hos følsomme stammer av *S. aureus*. Både følsomme og resistente stammer produserer fire PBP; PBP 1, 2, 3 og 4 (7, 13, 19, 40). Disse er essensielle for cellevekst og overlevelse for susceptible stammer, og er membranbundne DD-peptidaser som mest sannsynlig har utviklet seg fra serin-proteaser og har en biokjemisk aktivitet som ligner denne (7, 37 ). De har høy affinitet for de fleste betalaktamantibiotika.

Betalaktamantibiotika binder seg kovalent til serin i det aktive setet av PBPene, og trigger en letal kaskade av reaksjoner inni bakteriecellen fordi de inaktiverer enzymet i konsentrasjoner nær MIC (25, 41,52, 63). PBP2a viser karakteristika typiske for membranbundne proteiner, og særskilt de andre PBP, med transglykosylase- og transpeptidase-domener. PBP2a binder betalaktamer med mye lavere affinitet enn de opprinnelige PBP og i de resistente stammene av *S. aureus* kan PBP2a substituere for noen av de essensielle funksjonene av PBP1, 2, 3 og 4. PBP2a tillater altså peptidoglykan kryssbinding på konsentrasjoner av betalaktamantibiotika som inaktiverer de preeksisterende PBPene. Dermed overlever bakterien i konsentrasjoner av antibiotikaen som ellers ville vært dødelige.

Laboratorieforsøk med resistente stafylokokkstammer har imidlertid vist at PBP2a har en begrenset evne til å produsere høygradig kryssbundne trimerer eller oligomerer (muropeptidkomponenter i peptidoglykanet i celleveggen), som er de typiske produktene av det normale cellesyntetiske maskineriet (61). Når meticillin tilsettes et medium med en reistent stafylokokkstamme erstattes nemlig den normalt komplekse celleveggen, av en enklere struktur hvor peptidoglykanet er dannet hovedsakelig av to komponenter, nemlig pentaglycyl monomeren og dens dimer, med en svært liten mengde trimerer og kun spor av høyere oligomerer (7, 13, 24, 25).

Tidligere trodde man at PBP2a kunne erstatte alle funksjonene til de opprinnelige PBP under tilstedeværelsen av mettede konsentrasjoner av meticillin. Nyere data viser imidlertid at dette ikke er helt riktig. Man har oppdaget at PBP2a er avhengig av transglykosylase n-PB modulen hos de opprinnelige PBP 1, 2, 3 og 4 for å tildele resistens (56).

### 7.3. REGULERING AV *mecA*: *mecI* OG *mecR1*.

Uttrykk av PBP2a kontrolleres av to reguleringsgener på *mec*DNA, *mecI* og *mecR1*. Begge gener er lokalisert ”oppstrøms for” *mecA*, men er separert fra *mecA* ved dens promotor og operator, og er transkribert divergerende fra *mecA*. En analog, dog ikke så streng, kontroll av *mecA*, skjer gjennom *blaR1-blaI*-reguleringselementet. *MecI* og *mecR1* er lik de stafylokokkale elementene som regulerer betalaktamaseproduksjon, *blaI* og *blaR1*, som er lokalisert på penicillinase-plasmidet. De er lik i både molekylær organisasjon, funksjon og reguleringsmekanisme (22, 29, 48, 56, 61). *BlaI* er et DNA-bindende protein som undertrykker betalaktamase-gentranskripsjon. *BlaR1* koder for et signaltransduserende PBP som under påvirkning av betalaktamantibiotika, medfører betalaktamase gentranskripsjon (13, 25, 40). *MecR1*-proteinet er en sakte inducerer (”slow-inducer”) av *mecA*-transkripsjon under tilstedeværelsen av betalaktamer.

Som *BlaR1*, består *mecR1* av to regioner, et membran-omgivende domene og et penicillinbindende domene (13, 61). *MecI* er en sterk repressor av *mecA* transkripsjon, og har en primærstruktur som er veldig lik *BlaI*. *BlaI* er repressoren for stafylokokkal betalaktamaseproduksjon. Totalt sett medfører altså *mecI-mecR1* en sterk undertrykking av *mecA*-genet (og dermed en sterkt undertrykt PBP2a-produksjon), en sakte induksjon av *mecA*-gentranskripsjon og et marginalt nivå av meticillinresistens (7, 13, 18, 29).

*MecA* er tilstede i alle MRSA, men det er imidlertid betydelig variasjon i tilstedeværelsen av andre gener. *MecR1-mecI* er tilstede i 60-95 % av *mecA*-positive *S. aureus*.

Mutasjoner eller delesjoner i *mec* eller *mecA*-promotor-regionen letter represjonen, og produksjonen av PBP2a øker og dermed øker også resistensnivået mot meticillin (7, 61).

To-punkts-mutasjoner detekteres ofte i *mecI*-genet. En av de vanligste substitusjonene er på nukleotid-posisjon 202 (C til T) eller på posisjon 260 (T til A). Begge mutasjoner resulterer i et ”in-frame” stopp-kodon i midten av *mecI*-genet (56). Disse stammene produserer ikke et funksjonelt repressorprotein, noe som tillater maksimalt uttrykk av meticillinresistens.

Punktmutasjoner i operator regionen hos *mecA*-promotoren har også blitt identifisert (7).

Man har isolert et lite antall *S. aureus*-stammer som har et lavt eller ikke-eksisterende meticillinresistensnivå. Disse isolatene har intakt *mecI* og *mecR1* og kalles pre-MRSA (*S. aureus* stamme N315) og er fenotypisk følsom for meticillin (7, 56, 61). Under forsøk med vekst på selektive medier, har det imidlertid vist seg at resistente celler oppstår med høy

frekvens (10<sup>-5</sup> til 10<sup>-6</sup>) i denne spesielle stammen av MRSA. Det er sannsynlig at dette er et resultat av punktmutasjoner og -delesjoner i *mecI*-genet (56).

#### **7.4. fem GENENE / FAKTORENE.**

Ved hjelp av ”insersjonsmutagenese” med Tn551, har man klart å identifisere en gruppe gener som er essensielle for uttrykket av meticillinresistens (7, 61). Disse genene kalles *fem* (factors essential for the expression of methicillin resistance) eller *aux*(auxillary factor) (29, 56, 61). Disse genene finnes hos alle villtypestammer (56).

Denne oppdagelsen har medført den nåværende forståelsen av at meticillinresistensen er kompleks og ikke bare krever uttrykk av *mecA* genet, men også samarbeid med og aktivitet hos addisjonelle gener, deriblant *fem* faktorene (61). *Fem* genene er fysisk distinkt fra *mec* DNA (SCC*mec*), lokalisert gjennom hele det stafylokokkale genom og er essensielle for maksimal resistens. De finnes i både MSSA og MRSA og koder for enzymer eller regulerer (direkte eller indirekte) aktiviteten til enzymer katalyserer reaksjoner i forskjellige stadier av peptidoglykan-biosyntesen eller nedbyggingen (56, 61). Transposon mutagenese av *fem*-gener fører til en reduksjon i meticillinresistens, mens inaktivering av *fem*-gener i følsomme stammer resulterer i hyperfølsomhet overfor betalaktamer (7, 61). Produksjonen av PBP2a og de andre PBPene påvirkes ikke av transposon mutagenese av *fem* faktorene (7, 61). Mekanisme(n)e bak hvordan *fem* genene bidrar til uttrykket av meticillinresistens i kliniske isolater er imidlertid enda ikke klarlagt (61) og deres bidrag til høynivåresistens i kliniske isolater er heller ikke bevist (56).

I 2002 kjente en til 8 *fem* gener, og i dag har antallet økt til over 20 (7, 56, 61).



## **7.5. RESISTENSENS FENOTYPE; HETEROGEN OG HOMOGEN RESISTENS.**

Subpopulasjoner av celler i en meticillinresistent stafylokokkstamme som produserer PBP2a, varierer i det fenotypiske uttrykket av resistensen. Selv om alle celler i en MRSA populasjon har potensialet til å uttrykke resistens overfor meticillin, oppfører populasjonen seg ikke på en homogen måte. Det er varierende grad av heterogenitet i det fenotypiske uttrykket av antibiotikaresistens i forskjellige stammer, og innen progenyen av en enkelt MRSA stamme (7, 56, 61). Resistensnivået varierer avhengig av vekstforholdene og betalaktamantibiotikaen som brukes (7, 56, 61).

Homogen resistens innebærer at alle cellene i populasjonen uttrykker resistens, mens heterogen resistens betyr at cellepopulasjonen er delt; en del av cellene uttrykker resistens andre ikke.

I kliniske isolater av MRSA er hovedandelen av populasjonen relativt følsom for meticillin, og kun en liten del av celler uttrykker høye nivåer av resistens (61).

Hovedandelen av celler i heterogene stammer (99,9 % eller mer) er følsom for lave konsentrasjoner av betalaktamantibiotika, for eksempel 1 til 5 mikrogram per milliliter av meticillin. Bare en liten andel av cellene (1 av 1000000) vokser under meticillinkonsentrasjoner på 50 mikrogram eller mer (8, 7, 35, 41, 56, 63). Stammer som konsistent produserer populasjoner av høynivå resistente celler, kalles homogent uttrykte stammer (61). Subpopulasjon av høyt resistente MRSA, innen en heterogen stamme forekommer med lav frekvens, men populasjonen kan under forhold som høyt antibiotiketrykk forandre resistensfenotypen ved å selektere for veldig resistente mutante kloner (61). Disse klonene produserer en homogen populasjon av veldig resistente celler, som kan vokse på meticillinkonsentrasjoner på 50-100 mikrogram per milliliter (7, 25, 41). Dette trekket synes imidlertid å være ustabil i laboratorie-selekterte kloner, der en ved repeterte subkulturer i et antibiotikafritt medium ser at proporsjonen av høyt resistente celler går ned, og det heterogene resistensmønsteret reetableres (7, 61).

Den praktiske implikasjonen av dette, er at hver MRSA stamme, uavhengig av om stammen er heterogen eller homogen, kan forårsake behandlingssvikt (8, 61, 64).

Heteroresistensen er inndelt i fire klasser (41). Klasse 1 har en dominerende populasjon av lavresistente eller ikke-resistente celler (lav MIC (Minimum Inhibitory Concentration); 1,5-3

mg/L, det vil si ikke resistent), mens en minoritet; 10 i -8- 10 i -7, har MIC på 50-100 mg/L. Klasse 4 uttrykker homogen resistens og MIC er svært høy (41).

Heterogent uttrykk av meticillinresistens kompliserer detekteringen av MRSA i kliniske laboratorier, og gjør det nødvendig å bruke spesielle metoder for å detektere denne undergruppen av MRSA (7, 56, 61). Lav inkubasjonstemperatur (30-35 grader Celsius), tilsetning av salt til mediet (2-4 % NaCl), forlenget inkubasjonstid og å tilsette antibiotika til mediet gjør det lettere å detektere heterogen resistens hos MRSA (7, 56, 61).

#### **7.6. BORDERLINE RESISTENS.**

Borderline resistente *S. aureus* (BORSA) er *mecA*-negative stammer som har en lett forhøyet MIC-verdi mot oxacillin (i området 1-6mg/L)(10). Dette er en annen type nedsatt følsomhet mot meticillin, som fremvises av såkalte "lav nivå"-meticillin resistente stammer, og forekommer på grunn av at de produserer store mengder betalaktamase eller har forandrede PBPer som medfører en økt resistens mot meticillin (61). Ingen kliniske data tyder imidlertid på at resistensnivået som uttrykkes i disse stammene medfører behandlingssvikt (7).

## 7.7. METICILLINRESISTENSENS OPPRINNELSE.

Mange teorier om opprinnelsen av *mecA* har blitt foreslått, deriblant at *mecA* kom av en homolog rekombinasjon mellom PBP og betalaktamasegenet i en ukjent organisme (61).

Den gjeldende oppfatning i dag er imidlertid at *mecA* har opprinnelse i en koagulase-negativ stafylokokk (KoNS) art, muligens en nær evolusjonær slektning av *S. sciuri*(20,21), som ble ført over til *S. aureus* for så å generere MRSA (29). Man antar at *ccr* og *mec* genene ble ført sammen i coagulase-negative stafylokokker(CoNS) fra en ukjent kilde, hvor en delesjon innen de *mec* regulatoriske genene skjedde, før genene ble overført til *S. aureus* for å generere MRSA (7, 11, 35, 56). Det er sannsynlig at SCC*mec* fungerer som bæreren av *mecA* genet som beveger seg mellom flere stafylokokkale arter, siden *mecA* gener i andre stafylokokk arter aldri har blitt funnet uten at en SCC*mec*-lignende struktur også har vært tilstede (8, 14, 22, 29). Siden både *ccrA*- og *ccrB*-genene kreves for integrasjonen, må disse genene også ha vært intakte når integrasjonsprosessen fant sted (29).

SCC*mec* kan ha utviklet seg fra et opprinnelig (primordiale) mobilt genetisk element; SCC, også ble *mec* integrert inn i denne (11, 29). Opprinnelsen av SCC*mec* er ukjent, men er hittil kun funnet i stafylokokk stammer. Mekanismene for *mecA* overføring er heller ikke kjent, men forskjellige studier støtter teorien om at det har skjedd en horisontal overføring av *mec* DNA mellom stafylokokk arter (11, 22, 29).

Disse funn og konklusjoner, av blant andre Ito og medarbeidere, støttes også av en nylig publisert norsk studie av Anne- Merethe Hanssen, Gry Kjeldsen og Johanna U. Erickson Sollied ved Institutt for Medisinsk biologi ved Universitetet i Tromsø. I denne studien tok de utgangspunkt i en hypotese om at norske sporadiske MRSA stammer er genetisk unike og forskjellige fra MRSA stammer fra andre regioner og inneholder SCC*mec* gener fra MR-CoNS fra den samme geografiske region. Dette undersøkte de ved å sammenligne den molekylære komposisjonen av to grunnleggende strukturer i resistens kassetten, rekombinase genene *ccrAB* og *mec* gen komplekset, i genetisk urelaterte isolater av MRSA, *S. epidermis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis* og *S. warneri* fra Norge, Finland, India, Italia, Storbritannia og USA (22).

Deres studie viste at konserveringen i *ccrAB* allelene, innhentet fra forskjellige stafylokokk arter fra den samme geografiske regionen, støtter hypotesen om at det foregår en horisontal

genoverføring, selv om de ikke kunne identifisere opprinnelsen av *SCCmec* eller retningen av og mekanismene bak overføringen (22).

### **7.8 EPIDEMISKE MRSA.**

Epidemiske MRSA er stammer av MRSA som koloniserer mennesker lettere og spres over landegrenser, det vil si at disse stammene har et stort epidemisk potensial. I land hvor disse høyt epidemiske, multiresistente klonene (Iberianske og Brasilianske kloner for eksempel) har fått fotfeste, har det forårsaket store problemer med tanke på behandling og begrensning av smitteutbredelsen (56).



## **8. ANTIMIKROBIELLE AGENTER AKTIVE MOT MRSA.**

### **8.1. BETALAKTAMANTIBIOTIKA.**

Denne gruppen inkluderer penicilliner, cefalosporiner, cephamyciner, monobaktamer og karbapenemer. I Norge i 2001, var 74,1 % av *S. aureus* isolater fra blodkultur og 79,7 % fra sårprøver fra både hospitaliserte pasienter og ikke-hospitaliserte pasienter, betalaktamase positive (56).

De tilgjengelige medikamentene i denne gruppen binder seg for dårlig til PBP2a til å være aktive på klinisk relevante konsentrasjoner (7, 56, 61). Av medikamentene i denne gruppen har PBP2a best affinitet for penicillin, ampicillin og amoxicillin, og store doser av disse i kombinasjon med en betalaktamaseinhibitor (clauvalanic acid eller sulbactam) har i dyrestudier vist seg å ha en viss effekt i behandlingen av endokarditter med MRSA som agens (64). Ved å tilsette rifampin til regimet, kunne man også redusere dosen signifikant (7, 61). Det finnes imidlertid ingen erfaring (klinisk utprøving) på human bruk av disse medikamentene (7, 64).

### **8.2. VANCOMYCIN.**

Vancomycin er et glykopeptidantibiotikum og førstevalgs-medikamentet ved infeksjoner med MRSA (7). Vancomycin er aktiv mot gram-positive kokker inkludert både meticillinfølsomme og meticillinresistente stafylokokker (61). Man har sett eksempler på nedsatt følsomhet eller resistens for vancomycin også hos MRSA (første tilfelle rapportert fra Japan i 1997), men dette er unntaket snarere enn regelen og de fleste MRSA-stammer er følsomme for vancomycin (8, 10, 16). Som tidligere nevnt finnes resistens mot vancomycin hos enterokokker (*vanA* genet), og man har i laboratoriestudier påvist at man kan sette dette genet inn i *S. aureus* (og MRSA), og at det er fremdeles funksjonelt (48, 53, 61).

Vancomycin er et mindre aktivt stafylokokkmiddel enn betalaktamantibiotika er, og behandlingssvikt kan forekomme (7, 56). Det har vist seg spesielt vanskelig å behandle MRSA-endokarditter med kun vancomycin (6, 64), og man finner i denne settingen en behandlingssvikt på cirka 10- 20 % av pasientene (7). Det har vist seg at man kan tilsette en agent nummer to; rifampicin, til behandlingsregimet, i tilfeller der vancomycin har vist seg å være ineffektiv i behandlingen av MRSA endokarditter (7).

### **8.3. TEICOPLANIN.**

Teicoplanin er i likhet med vancomycin et glykopeptidantibiotikum, men har til forskjell fra vancomycin en mye lengre halveringstid og kan administreres intramuskulært (7, 11).

Teicoplanin kan imidlertid være mindre effektiv enn vancomycin (på grunn av høygradig proteinbinding og dermed mindre tilgjengelig effektivt medikament), og kliniske behandlingsstudier har vist at teicoplanin har en behandlingseffekt på 55 %, mens vancomycin har en effekt på 76 % (7).

### **8.4. FLUOROKINOLONER.**

Det primære mål for fluorokinoloner i *S. aureus* er topoisomerase IV mens DNA gyrase er det sekundære mål (11). Fluorokinolonene virker dermed ved å hemme DNA-replikasjonen i *S. aureus* (50).

Resistens for fluorokinoloner hos *S. aureus* utvikler seg raskt og dette medfører en begrensning i nytteverdien av dette medikamentet (7, 61). *grlA* genet koder for A subenheten i topoisomerase IV, og en punktmutasjon her kan produsere et signifikant resistensnivå(19). Resistensen kan få et enda høyere nivå om det i tillegg oppstår en mutasjon i A subenheten i DNA- gyrasen (7, 61). Særlig ved monoterapi med fluorokinoloner utvikler det seg raskt

resistens, men ved å kombinere et fluorokinolon med rifampicin kan en behandle stafylokokkolonisering og alvorlig stafylokokkinfeksjon (7).

En kan imidlertid ikke behandle MRSA med fluorokinoloner, da de er relativt sett for resistente mot medikamentet, og faren for kryssresistens til de nyere agentene i denne gruppen er for stor (7, 35).

### **8.5. TRIMETOPRIM- SULFAMETOXAZOL.**

Dette medikamentet hemmer to påfølgende steg i bakteriens folinsyremetabolisme, og har baktericid effekt. Trimetoprim sulfametoxazol kan brukes som en siste utvei hos pasienter som ikke tåler vancomycin eller i tilfeller der vancomycin behandlingen har sviktet (7, 56, 35).

### **8.6. RIFAMPICIN.**

Rifampicin hemmer transkripsjonen i proteinsyntesen ved å hemme DNA-avhengig RNA-polymerase og har selektiv toksisitet overfor bakterier (50). Dette medikamentet brukes for å behandle MRSA-infeksjoner hos pasienter som ikke har respondert på behandling med vancomycin alene (7).

### **8.7. AMINOGLYKOSIDER.**

Dette er en stor gruppe med antibiotika som har smal terapeutisk bredde og baktericid effekt. Aminoglykosidene virker ved at koden på mRNA feiltolkes; noe som medfører at bakterien danner proteiner med feil aminosyresekvens som dermed ikke fungerer (50). Gentamicin, tobramycin og netilmicin er aminoglykosidene som har best effekt mot stafylokokker, men

mange MRSA-stammer produserer aminoglykosid-modifiserende enzymer og er dermed resistente mot aminoglykosider (7). Derfor er det viktig at følsomhet dokumenteres før denne gruppen antibiotika eventuelt brukes som terapi.

### **8.8. OXAZOLIDINONES (LINEZOLID OG EPEREZOLID).**

Dette er en ny klasse syntetisk antibiotikum som har effekt mot mange gram-positive bakterier, deriblant MRSA. Disse medikamentene virker bakteriostatisk ved å inhibere proteinsyntesen på et steg før dannelsen av initierings-komplekset, altså inhiberes proteinsyntesen på et svært tidlig stadium. Dette kan være forklaringen på at selv de mest tilpasningsdyktige bakteriestammer synes å ha store problemer med å utvikle resistens mot behandlingen (21). Både perorale og intravenøse preparater finnes (7, 21).





## 9. METODER FOR PÅVISNING AV MRSA.

Man har utviklet flere metoder for å identifisere og påvise MRSA

MRSA kan påvises ved hjelp av dyrkning, og de vanligste metodene er basert på modifiserte kulturforhold (for å øke uttrykket av resistens). Modifikasjonene består i å bruke oxacillin, inkubere på 30 eller 35 grader Celsius istedenfor 37 og å inkubere i 24 timer istedenfor 16 til 18 timer. I tillegg tilsettes NaCl 2 %.(7). Eksempler på disse er; agardiffusjon, selektive medier (mannitol saltagar) (brukes som regel for å påvise bærerskap av MRSA), MIC-bestemmelse ved E-test og BBL Crystal MRSA ID-test.

En kan også påvise MRSA ved å påvise PBP2a med lateksagglutinasjonstester hvor monoklonale antistoffer binder PBP2a (41).

En tredje metode for å påvise MRSA, er ved å påvise *mecA*-genet. Det gjøres ved hjelp av PCR eller DNA-hybridisering(10,19). På grunn av meticillinresistensens heterogene natur kan det være vanskelig å få nøyaktige resultater med fenotypiske tester. *mecA*-påvisning betraktes derfor som gullstandarden for deteksjon av meticillinresistens hos *S. aureus* i dag (7).



## **10. EPIDEMIOLOGISKE FAKTA VEDRØRENDE**

### **ANTIBIOTIKABRUK OG MRSA**

Det har de siste årene vakt allmenn bekymring at problemet med antibiotikaresistente bakterier øker i verden. Norge har per i dag en av de laveste forekomstene av antibiotikaresistens i Europa (37), men faren for at en lignende utvikling skal skje i Norge er stor. Flere tiltak er igangsatt, og for første gang er midler til bekjempelse av antibiotikaresistens egen post på statsbudsjettet (27). Nasjonal overvåkning av antibiotikaresistens er et av de viktigste tiltakene; herunder NORM (Norsk overvåkningssystem for antibiotikaresistens hos mikrober) som koordineres fra Universitetssykehuset i Nord-Norge. NORM/NORM-VET overvåker forekomsten av antibiotikaresistens blant sykdomsfremkallende bakterier fra henholdsvis mennesker og dyr/matproduksjon (42).

Det er ikke lengre tvil om at denne økningen på verdensbasis skyldes utbredt og liberal bruk av antibiotika (62). At vi i Norge og ellers i Norden har en relativt beskjeden resistensproblematikk, antas å skyldes tradisjonen med restriktiv antibiotikabruk. Vi skal se litt nærmere på dette. I Norge benyttes antibiotika til både dyr og mennesker. Menneskene står for omtrent 84 % av forbruket, husdyr for omtrent 15 % og oppdrettsfisk for i underkant av 1 % (27). Utover dette har bruken av antibiotika i Norge vist en gledelig nedgang i løpet de siste årene. Antibiotika til oppdrettsfisknæringen er redusert fra 49 tonn i 1987 til omtrent 0,75 tonn i 2001, noe som i stor grad skyldes utbredt vaksinerings av fisken samt hygieniske tiltak. Antibiotikabruk til husdyr er redusert med 40 % fra 1995 til 2001 etter målrettet innsats fra næringens side. Og når det gjelder mennesker, er forbruket redusert fra det høyeste målte nivået på 18.3 doser antibiotika per døgn per 1000 nordmenn i 1993 til 16.8 åtte år senere. 16.8 doser antibiotika per døgn per 1000 nordmenn, tilsvarer at nesten alle nordmenn hadde en antibiotikakur i løpet av året, eller at nesten 2 % Norges befolkning hver dag tok en dose antibiotika (27).

Til tross for denne nedgangen i antibiotikabruk, har vi allikevel sett at vi har fått en økning i forekomsten av enkelte resistente mikrober i Norge. Dette gjelder også for MRSA.

MRSA ble første gang beskrevet i England i 1961; vel ett år etter at meticillin ble tilgjengelig for klinisk bruk. Sporadiske rapporter om kliniske isolater av MRSA kom snart fra andre deler av verden, og det første veldokumenterte MRSA-utbruddet kom i 1968 i USA. Siden da har MRSA blitt isolert over hele verden, og er i dag blitt til et av mest fryktede nosokomielle agens vi har. MRSA-problemet oppstod initialt på sykehus hos pasienter i postoperative-, brannskade- og intensivavdelinger. Økt risiko for MRSA-infeksjon ble assosiert med bruk av bredspektrede antibiotika, respiratorisk støtte, alvorlig underliggende sykdom og lang hospitaliseringstid (61).

### **10.1. MRSA-FOREKOMSTEN I NORGE.**

MRSA er per i dag endemisk over hele verden; med unntak av Nederland og i de nordiske landene hvor forekomsten ligger under 1 %. De siste årene har det imidlertid vært en økning av MRSA-infeksjoner i Norge. I 1995 ble det meldt i underkant av 25 tilfeller, i 2001 122 tilfeller, i 2002 142 tilfeller og i 2003 216 tilfeller (57) (Figur 1). Dette innebærer en økning på cirka 16 % fra 2001 til 2002 og 50 % fra 2002 til 2003. (Den foreløpige situasjonen for 2004 er 72 meldte tilfeller av MRSA-infeksjoner per 22.juni 2004, mot 89 meldte tilfeller per første halvår i 2003). Bare MRSA-infeksjoner er meldingspliktige; ikke MRSA-koloniseringer. Når det gjelder smittested, har andelen av de som oppgis å ha blitt smittet i Norge økt fra 41 % i 1995 til rundt 63 % i årene 1999-2002 og til 76 % i 2003 (figur1). Sårinfeksjoner og abscesser utgjorde hele 88 % av de meldte infeksjonene i 2003 og 78 % for hele niårsperioden (1995-2003). MSIS har ikke registrert dødsfall i Norge i 2003 på grunn av MRSA-infeksjon, og antallet alvorlige infeksjoner var fremdeles lavt med fem kliniske septikemier og to osteomyelitter (57). Med så lave tall er det vanskelig å si noe om det er noen sikker økning i antall alvorlige infeksjoner de siste årene. Blant Norges fylker, hadde Finnmark den høyeste insidensraten av MRSA-infeksjoner i 2003 med 163 tilfeller per million innbyggere (tabell 2). Oppland hadde den laveste insidensraten med 11 per million innbyggere og Troms havnet på sjetteplass med 59 tilfeller per million innbyggere (57).

## **10.2. MRSA-INFESJONER ERVERVET UTENFOR SYKEHUS.**

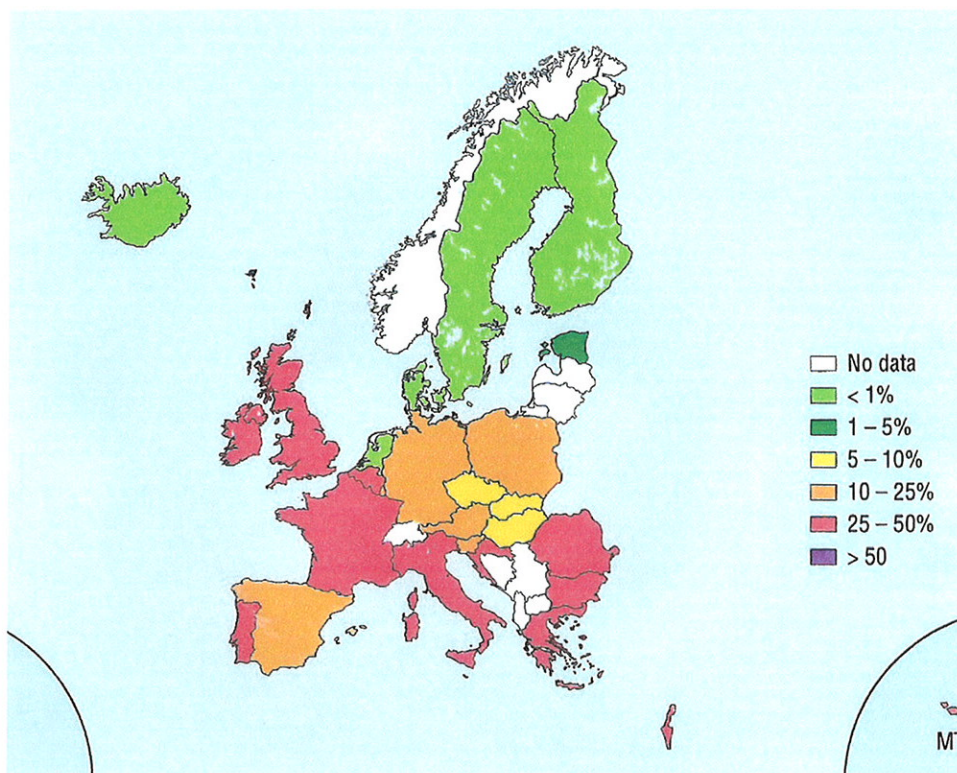
Økningen fra 2002 til 2003 utgjøres særlig av sårinfeksjoner hos pasienter som *ikke* var innlagt på sykehus da diagnosen ble stilt og med Norge som angitt smittested. Under en tredjedel (31 %) av pasientene som ble syke i 2003 var innlagt på et sykehus da diagnosen ble stilt, mens hele ~50 % av pasientene *ikke* var innlagt på sykehus da diagnosen ble stilt og hadde i tillegg Norge som det mest sannsynlige smittested (tabell 1). Dette har ført til at oppmerksomheten nå også blir rettet mot MRSA som forekommer *utenfor* sykehus (CA-MRSA, Community-Acquired Infections). Mange av pasientene med miljøervervede infeksjoner har ikke umiddelbart identifiserbare risikofaktorer for å bli infisert med et MRSA-isolat, og dette vekker bekymring (49). Dersom det blir en stor spredning av miljøervervede MRSA-infeksjoner utenfor institusjonene, kan det bli et folkehelseproblem, men disse infeksjonene er først og fremst farlig for personer med svekket immunforsvar (23). Det er nærliggende å anta at dersom man ønsker å forhindre at MRSA-infeksjoner blir et stort problem på sykehus i Norge, må en også sette inn arbeid og ressurser på å bekjempe MRSA i primærhelsetjenesten. Den regionale epidemiologiske overvåkingen skal raskt kunne identifisere stammer med kjent epidemisk potensial hos pasienter utenfor sykehus og iverksette smittesanerende tiltak. Samarbeid med og mellom smitteansvarlig lege i kommunen og de allmennpraktiserende legene er her av stor betydning (49).

## **10.3. MRSA-FOREKOMSTEN UTENFOR NORGE.**

Forekomsten av MRSA-infeksjoner er som sagt lav i Norden og Nederland om man sammenligner med resten av verden. Unntaket er Stockholmsregionen hvor antallet tilfeller særlig viste en økning i siste halvår av 2003. Det svenske Smittskyddsinstitutet, som er søsterinstituttet til det norske Folkehelseinstituttet, meddeler at Stockholm har dobbel så høy forekomst av pasienter med MRSA sammenlignet med resten av Sverige (54). Problemet sees ikke bare ved sykehus, men også ved andre institusjoner. Det er vanskelig å skille mellom institusjoner med og uten utbrudd, og Stockholms myndigheter vurderer det slik at de ikke har kontroll over utbruddet (54). Personell og pasienter fra Stockholmsregionens helseinstitusjoner oppfattes som høyrisikogruppe for MRSA-spredning, og det norske Folkehelseinstituttet har nå bedt norske sykehus følge MRSA-anbefalingene i forhold til

disse gruppene. Den dominerende bakteriestammen i utbruddet er UK E-15; en kjent epidemisk bakterieklon fra Storbritannia (54).

Det er stor geografisk variasjon i utbredelsen av MRSA (56). I Norden er det en forekomst på under 1 % av stafylokokkisolatene, 25 % i Belgia, 34 % i Frankrike, 25 % i Spania, opp imot 80 % i det fjerne Østen og opp imot 70 % i enkelte stater i USA (2, 3, 33) (Figur 3). I USA merker man også problemet med CA-MRSA. Forekomsten av MRSA øker blant friske mennesker, og er ikke lengre forbeholdt sykehuspasienter og eldre med svekket immunforsvar. I enkelte stater i USA er forekomsten fordoblet i løpet av bare noen få år (3).



Figur 3. Prosentvis forekomst av MRSA blant *Staphylococcus aureus* i Europa 2002 (56).

#### **10.4. RISIKOFAKTORER FOR MRSA-INFEKSJON OG SPREDNING AV MRSA.**

Vi kjenner i dag til en rekke risikofaktorer for MRSA-infeksjon. Deriblant innleggelse eller jobb på et sykehus utenfor Norden, langvarig opphold i endemiske områder eller kontakt med pasienter med MRSA (49). Andre risikofaktorer inkluderer nedsatt immunforsvar, sår- og hudskader og bruk av stomi eller lignende som bryter hud- eller slimhinnebarrieren (23). Som sagt er forekomsten stigende blant ellers friske, unge mennesker utenfor sykehus og uten kjente risikofaktorer. Disse pasientene er vanskelig å identifisere, og behovet for å oppnå mer viten på området er stort. Ellers er det viktig å vise aktpågivenhet overfor import av MRSA-tilfeller, overholde de hygieniske retningslinjene ved institusjonene og fortsette den restriktive antibiotikabruken vi har i Norge i dag. Spredning av MRSA på et sykehus skyldes ofte for sen intervensjon, for dårlige hygienerutiner hos personalet og smittebærere som sprer bakterien til andre pasienter eller personale (49). Pasienter som er mulige bærere av MRSA representerer ikke noen fare for personalet eller andre pasienter i primærhelsetjenesten (33), men det er sterkt uønsket at bakteriene bringes inn i norske sykehus og sykehjem.

MRSA smitter stort sett ved kontaktsmitte fra person til person, men luftsmitte i form av dråpesmitte forekommer også (23). Pasienter som har blitt operert ved utenlandske sykehus, kan bringe med seg MRSA tilbake til Norge. Dette er selvsagt svært lite ønskelig; ikke minst fordi MRSA-utbrudd er vanskelig å behandle om det først har brutt ut på et sykehus (2). Helsepersonell som har arbeidet på utenlandske sykehus eller institusjoner, kan også føre med seg MRSA tilbake til Norge i form av kolonisering i nese/svelg, eventuelt på huden i perineum og/eller sår/hudskader (33). Bakterien kan gi sykdom hvis bæreren får nedsatt allmenntilstand, eller bæreren kan være en smittekilde overfor andre, immunsvekkede personer.

#### **10.5. KONSEKVENSER AV MRSA**

I Norge har vi etablert nasjonale retningslinjer for hvordan MRSA-utbrudd skal håndteres, og det er viktig at disse overholdes. MRSA-utbrudd på sykehus innebærer ikke bare økt morbiditet og ytterligere resistensutvikling, men også store økonomiske utgifter. Studier har vist at å behandle en MRSA-infeksjon er 6-10 % dyrere enn å behandle en MSSA-infeksjon (17, 41). Denne forskjellen kan ikke tilskrives større virulens hos MRSA, men snarere de økte

kostnadene av vancomycinbehandlingen, lengre hospitalisering og kostnadene som medfølger isolering av pasienten og tiltak for infeksjonskontroll. I tillegg til økte kostnader har studier (utenfor Norge) også vist at mortalitetsraten er 2.5 ganger høyere ved MRSA-infeksjoner sammenlignet med MSSA-infeksjoner (16, 40, 46). Det skal imidlertid også nevnes at noe av forskjellen kan tilskrives de eventuelle underliggende tilstandene til noen av pasientene som blir infisert med MRSA; som for eksempel eldre og dermed svakere pasienter samt pasienter som har blitt behandlet med antibiotika tidligere. I tillegg kan vancomycins kureringssevne ha vært for svak i noen tilfeller (41, 61).

Om dagens MRSA-utvikling fortsetter, ser ikke fremtiden stort bedre ut. Økt mobilitet over landegrensene innebærer også en mulighet for resistente mikrober å spre seg raskere og over større områder (23). Med "eldrebølgen" følger store forventninger til moderne medisin og helsevesen. Allerede nå sees en økende "avhengighet" til antibiotika både hos leger og pasienter; spesielt i enkelte u-land med begynnende industrialisering (23).



## 11. KONKLUSJON.

Formålet med denne oppgaven var å se nærmere på hvordan antibiotikaresistens oppstår og spres, og hvilke medisinske problemer dette kan medføre. Den grunnleggende arbeidsmåten har vært litteraturstudie.

Flere undersøkelser viser en økning i forekomsten av resistente bakterier i løpet av de siste årene. Blant de resistente bakteriene som er på frammarsj, er MRSA en av de mest fryktede. Stafylokokker er ofte resistente mot penicillin på grunn av betalaktamaseproduksjon. MRSA er resistente mot all betalaktamantibiotika, og man ser i tillegg en økende resistensutvikling mot de antibiotika som tidligere var effektive, eksempelvis vancomycin og teicoplanin. MRSA kan derfor være svært vanskelig å behandle, og fører med seg økte kostnader, økt morbiditet og økt letalitet.

MRSA ble først beskrevet i England i 1961, og har siden bare økt i forekomst over hele verden. Verst er situasjonen i de land hvor antibiotikabruken har vært liberal, for eksempel i Storbritannia, Sør-Europa, USA og i det fjerne Østen. Mangelfull sykehushygiene bidrar til problematikken. I Norge og Nederland er forekomsten fremdeles lav, men de siste årene har det imidlertid vært en økning av MRSA-infeksjoner også i disse landene. I Norge er altså situasjonen ennå gunstig, men for å bevare dagens situasjon kreves ikke *bare* den tradisjonelle restriktive antibiotikabruken. Noen av de nyere tiltakene inkluderer overvåkning av utbrudd av endemiske eller epidemiske stammer, aktpågivenhet når det gjelder import av helsepersonale/pasienter fra utenlandske sykehus og krav om innskjerpede hygieniske retningslinjer ved utbrudd på sykehus, herunder Regjeringens tiltaksplan mot antibiotikaresistens og NORM.

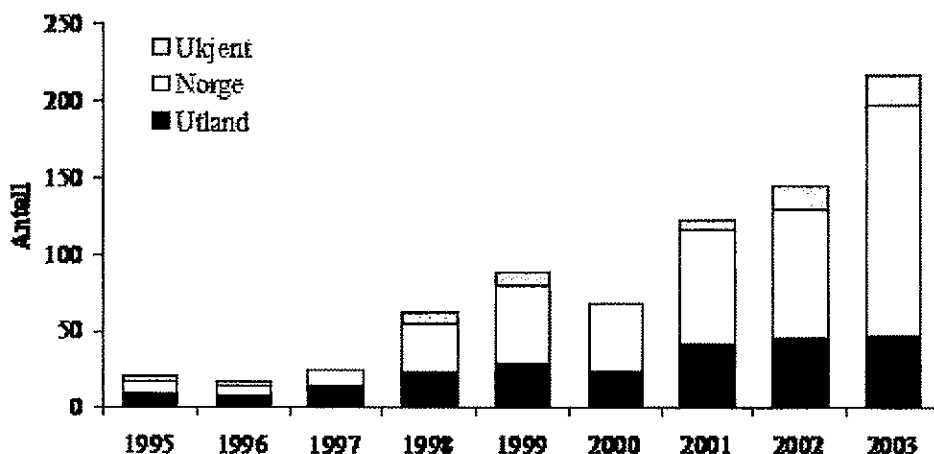
Gjennom mer ansvarsfull og bevisst antibiotikabruk, tiltak mot spredning av resistente arter og etablering av ny kunnskap rundt resistensproblematikken (deriblant folkeopplysning, utdanning av helsepersonell og forskning), er målet å fremdeles kunne holde forekomsten av bakterieresistens lav i Norge.



## 12. EPIDEMIOLOGISKE FIGURER OG TABELLER

(Kildehenvisning: punkt 31)

**Figur 1.** MRSA -infeksjon meldt MSIS 1995–2003 etter smittested.



**Tabell 1.** MRSA-infeksjon i Norge i 2003 fordelt på smittested og om pasienten var innlagt sykehus i Norge ved diagnostisering.

Smittested	Norge	Utlandet	Ukjent	Totalt
Innlagt i sykehus	42	19	3	64
Ikke innlagt i sykehus	104	27	13	144
Ukjent	3	1	4	8
Totalt	149	47	20	216

**Tabell 2.** MRSA-infeksjon i 2002-2003 etter fylke. Antall tilfeller og rate per million per år i 2003 (Rate).

	2002	2003	Rate		2002	2003	Rate
Østfold	5	20	78	Rogaland	18	8	21
Akershus	13	21	43	Hordaland	11	30	68
Oslo	25	23	44	Sogn og Fjordane	3	3	28
Hedmark	7	8	42	Møre og Romsdal	4	6	25
Oppland	1	2	11	Sør-Trøndelag	7	7	26
Buskerud	8	10	41	Nord-Trøndelag	3	17	133
Vestfold	3	5	23	Nordland	5	7	30
Telemark	8	9	54	Troms	6	9	59
Aust-Agder	2	3	29	Finnmark	2	12	163
Vest-Agder	11	16	100	Totalt	142	216	47

### **13. LITTERATURLISTE:**

1. Baker, Andrea: "Horizontal Gene Transfer". [www.life.uiuc.edu](http://www.life.uiuc.edu)
2. Batbayli, Mustafa: "MRSA og screening med Oxacillin". [www.bioan.dk](http://www.bioan.dk)
3. Breecher, Maury: "Antibiotic-Resistant Infections Increasingly Common in Healthy Folk". [www.docguide.com](http://www.docguide.com)
4. Bren, Linda. "The battle of the bugs: fighting antibiotic resistance". [www.stopgettingsick.com](http://www.stopgettingsick.com).
5. Bukholm, Geir og Aina Fossum. "MRSA utenfor sykehus- et betydelig folkehelseproblem i Norge?"(2004). Epi-Gen, Akershus universitetssykehus. Nasjonalt folkehelseinstitutt.
6. Bø K, Rustad L, Harthaug S, Akselsen PE, Tveten Y. "Infeksjonsutbrudd med meticillinresistente gule stafylokokker ved Haukeland Sykehus". Tidsskr Nor Lægeforen 2001;121: 204-8.
7. Chambers, Henry F. "Methicillin Resistance in Staphylococci: Molecular and Biochemical Basis and Clinical Implications". Clinical microbiology Reviews, Oct.1997, s. 781-791.
8. Chambers, Henry F."The changing epidemiology of Staphylococcus aureus?" Emerging Infect Dis 2001; 7:178-82.
9. Cohen, M.L. "Epidemiology of Drug Resistance: Implications for a Post-Antimicrobial Era". Science vol. 257. 21 August 1992.
10. Cookson B., F. J Scmitz & A. C Fluit. "MRSA: Current Perspectives". "Introduction to MRSA". Chapter 1. Chapter Abstracts.
11. Dale M.M, Rang H.P, Ritter J.M. "Pharmacology". Fourth edition 1999. Chuchill Livingstone, Harcourt Publishers Limited.
12. Degrè, Hovig, Bukholm og Rolag: "Medisinsk mikrobiologi", første utgave
13. Dessen, A, A.M DiGuilmi, T. Vernet og O. Dideberg. "Molecular Mechanisms of Antibiotic Resistance in Gram-Positive Pathogens.
14. Engemann J. J, Y. Carmeli, S. E Cosgrove, V. G. Fowler, M. E. Bronstein, S. L. Trivette, J. P. Briggs, D. J. Sexton og K.S. Kaye. " Adverse Clinical and Economic Outcomes Attributable to Methicillin Resistance among Patients with Staphylococcus aureus Surgical Site Infection". Clinical Infectious Diseases 2003; 36:592-8.

15. Espersen, F og V. Thamdrup Rosdahl. "Den mikrobiologiske uskyld- klinikerens ansvar for det nationale resistensmønster". Medisinsk årbog 1996. Munksgaard, København.
16. Feder HM. "Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Infections in 2 Pediatric Outpatients". Arch Fam Med/vol 9, June 2000: 560-562.
17. "First Report on MRSA Blood Cultures in Northern Ireland". Communicable diseases: MRSA summary. Northern Ireland: April 2001-March 2002. S:1-7.
18. Fong D.H, A. M. Berghuis. "Substrate promiscuity of an aminoglycoside antibiotic resistance enzyme via target mimicry". The EMBO Journal Vol.21 No. 10 pp.2323-2331, 2002.
19. Gaustad, P. "Mekanismer for utvikling av antibiotikaresistente bakterier". Tidsskr Nor Lægeforen 2001;121:3090-4.
20. Guiney, Davies, and Lacey: "Possible Origin of Antibiotic Resistant Genes". [www.info.bio.cmu.edu](http://www.info.bio.cmu.edu)
21. Hagen J. "Zyvoxid: Knekker resistente bakterier". Legemidler og Samfunn. [Http://www.legemidlersamfunn.no](http://www.legemidlersamfunn.no).
22. Hanssen A.M, Kjeldsen G. og J.U.E. Sollied. "Local Variants of Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* in Sporadic Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus and Methicillin-Resistant Coagulase-Negative Staphylococci: Evidence of Gene Transfer?". Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Jan.2004, p.285-296.
23. Hawky, Peter M: "The Enemy Within – Hospital-Acquired, Antibiotic-Resistant Bacteria". MicrobiologyToday, Vol. 28, February 2001.
24. Hawkey, Peter M. "The origins and molecular basis of antibiotic resistance". BMJ 1998; 317: 657-60. Department of Microbiology and Antimicrobial Research Centre, University of Leeds. [www.bmj.bmjournals.com](http://www.bmj.bmjournals.com)
25. Hawkey, Peter M. "The origins and molecular basis of antibiotic resistance". British Medical Journal, sept5, 1998.
26. Heir E, Langsrud S, Sidhu MS, Steinbakk M. "Kan desinfeksjonsmidler bidra til bakteriell antibiotikaresistens?" Tidsskr Nor Lægeforen nr. 27, 2001;121:3201-6.
27. Helsedepartementet i Norge: "Tiltaksplan for å motvirke antibiotikaresistens". [www.odin.dep.no](http://www.odin.dep.no).
28. Hogan, Jennifer: "Resistance of Microbial Cells to Antimicrobial Agents by Efflux". Trinity Student Medical Journal 2003. [www.tcd.ie/tsmj/2003/resist.htm](http://www.tcd.ie/tsmj/2003/resist.htm)

29. Ito T, Katayama Y, Asada K, Mori N, Tsutsumimoto K, Tiensasitorn C & Keiichi Hiramatsu. "Structural Comparison of Three Types of Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* Integrated in the Chromosome in Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus". Antimicrobial Agents and Chemotherapy, May 2001, p.1323-1336.
30. Iversen, Bjørn G. "MRSA-infeksjon i Norge 2002". I: She-nytt nr.2, 2003, årgang 7. Nasjonalt folkehelseinstitutt. Avdeling for infeksjonsovervåking. [www.fhi.no](http://www.fhi.no)
31. Iversen, Bjørn G. "MRSA-infeksjon i Norge 2003". Nasjonalt folkehelseinstitutt. Avdeling for infeksjonsovervåking. [www.fhi.no](http://www.fhi.no)
32. Iversen, Bjørn Gunnar: "MRSA utenfor sykehus". [www.fhi.no](http://www.fhi.no)
33. Jacobsen, Trond: "Mikro-Nytt"; informasjon fra Regionsykehuset i Trondheim, avdeling for mikrobiologi. [www.stolav.no](http://www.stolav.no)
34. Klemsdal KH. "Frykter resistente gule stafylokokker". Helse Bergen, Haukland Universitetssykehus.  
[Http://www.helsebergen.no/tema/sykehushygiene/stafylokokker.htm](http://www.helsebergen.no/tema/sykehushygiene/stafylokokker.htm)
35. Larssen, K. W. "MRSA-infeksjon og MRSA-kolonisering". Tidsskr Nor Lægeforen nr.7, 2004;124. s. 985.
36. Leegård, Truls. "Antibiotikaresistens i Norge". Tidsskr Nor Lægeforen 2002;122:2297.
37. Leegard, Truls: "Occurrence of Antibiotic Resistant Bacteria in Norway". [www.fhi.no](http://www.fhi.no)
38. Levy, Stuart B: "The Challenge of Antibiotic Resistance", Scientific American, March 1998.
39. Midtvedt, Tore. "Mennesket, mikrobene og miljøet ved slutten av et millennium". Tidsskr Nor Lægeforen nr.29,1998, 118: 4494.
40. Mims, Playfair, Roitt, Wakelin & Williams. "Medical Microbiology", Second Edition.
41. Nasjonalt folkehelseinstitutt. "Nasjonale anbefalinger for å forebygge infeksjoner med meticillinresistente Staphylococcus aureus (MRSA) i sykehus og sykehjem". Oslo, 2002.
42. NORM. NORM-VET. "Consumption of Antimicrobial Agents and Occurrence of Antimicrobial Resistance in Norway". NORM. NORM-VET. 2002.
43. Olsen I, T Handal og P. Løkken. "Bakteriedrepende virus, stalinister og "superbugs". Tidsskr Nor Lægeforen 2001; 121: 3197-200.

44. Powell, W. J: "Molecular Mechanisms of Antimicrobial Resistance", Technical Report # 14, February 2002.
45. Priemè, Anders: "Mikrobene har triumfkortet", Illustrert Vitenskap 2004.
46. Public Health Laboratory Service. CDSC. Wales nhs.uk. "MRSA guidelines-MRSA & Antibiotic Resistance".
47. Rice, L. "Controlling antibiotic resistance in the ICU: different bacteria, different strategies". Case Western Reserve University School of Medicine, Cleveland. Volume 70, nr. 9, September 2003.
48. Robinson D.A, Enright M.C. " Evolutionary Models of the Emergence of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus". Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Dec. 2003, p.3296-3934.
49. Samuelsson, Susanne: "MRSA-infeksjoner", Epi-Nyt, uke 4, 2004. [www.ssi.dk](http://www.ssi.dk)
50. Simonsen T, Aarbakke J. " Illustrert farmakologi". Bind 2. Fagbokforlaget Vigmostad & Bjørke AS.
51. Smittskyddsinstitutet, Sverige. "Kritisk MRSA-situasjon i Stockholm" Nyhetsbrev fra Smittskyddsinstitutet, Stockholm, Sverige. Tidsskr Nor Lægeforen nr.22, 2003; 123.s. 3172.
52. Stelek, M. "Microbial Warfare: The frontlines of antibiotic resistance". The surgical technologist, Nr. 06, 1999.
53. Sturhaug, Anne. "Gule Stafylokokker: Plukker opp resistens". Legemidler og samfunn. Nr.6, 2002. S: 44-46.
54. Sundar, Tom: "Svensk MRSA-utbrudd får konsekvenser for Norge". [www.tidsskriftet.no](http://www.tidsskriftet.no)
55. Sundar, Tom: "Nye regler mot MRSA infeksjoner" Tidsskr Nor Lægeforen nr.20, 2002; 122. s.2052.
56. Tveten, Yngvar. " Microbiology of staphylococcal infections". Department of clinical Microbiology, A/S Telelab, Skien, Norway og University of Tromsø, Tromsø, Norway. (EARSS Annual Report 2002).
57. Tveten Yngvar, Grude Nils, Kristiansen Bjørn-Erik: "MRSA utenfor sykehus". [www.fhi.no](http://www.fhi.no)
58. US Department of Health and Human Services: "The Problem of Antibiotic Resistance", april 2004. [www.niaid.nih.gov](http://www.niaid.nih.gov)
59. Vorland, L. H." Hva gjør bakterier patogene?" Tidsskr Nor Lægeforen 2001; 121:3083-9.

60. Walker, R.I: "Development of New Anti-microbial Strategies for Control of Opportunistic Pathogens", International Study Group of Antimicrobial Strategies; ISGNAS. [www.isgnas.org](http://www.isgnas.org)
61. Wax R.G, K. Lewis, A.A Salyers & H. W Taber. (2002)" Bacterial Resistance to Antimicrobials". Marcel Dekker, Inc.
62. WHO (Verdens Helseorganisasjon), Expert Workshop on Non-Human Antimicrobial Usage and Antimicrobial Resistance: "Non-Human Antimicrobial Usage and Antimicrobial Resistance". Sammendrag av Genevekonferansen desember 2003. [www.who.int](http://www.who.int)
63. Wise, S. "Methicillin Resistant Staph.aureus (MRSA)" RN, BSN, Johns Hopkins.
64. Young SK, Quingxiang L, Lucien LC, Chambers HF & Tauber MG. "Comparativ Efficacy of Trovafloxacin in Experimental Endocarditis Caused by Ciprofloxacin-Sensitive, Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus". Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Dec.1998, p. 3325-3327.
65. Aavitsland, P." Alternativer til antibiotika". Tidsskr Nor Lægeforen nr.26, 2001;121: 3037.