



UiT / NORGES ARKTISKE
UNIVERSITET

**Endringer i normalfloraen ved antibiotikabehandling av nyfødte
- kliniske og økologiske konsekvenser**

5.årsoppgave,

Profesjonsstudiet i Medisin, UiT Norges arktiske universitet

Student: Eeva-Liisa Angell, kull 09

Veiledere:

Claus Klingenberg, Seksjonsoverlege Nyfødt, Barneavdelingen UNN/UiT

Gunnar Skov Simonsen, Avdelingsoverlege ved avdeling for mikrobiologi og smittevern,
UNN/UiT, NORM

Tromsø, dato: 01.06.14

Innholdsfortegnelse

SAMMENDRAG	3
INTRODUKSJON OG TEORI	4
<i>Antibiotikaeksponering og innvirkning på normal tarmkolonisering</i>	4
<i>Nekrotiserende enterokolitt (NEK)</i>	5
<i>Alvorlige infeksjoner og sepsis hos nyfødte</i> - <i>sjelden, men fryktet komplikasjon i nyfødtperioden</i>	5
<i>Antibiotikaøkologi og resistens</i>	6
MATERIALE OG METODE.....	7
<i>Spørsmålsformulering</i>	7
<i>Søkestrategi og seleksjonskriterier for del 1</i>	7
<i>Søkestrategi og seleksjonskriterier for del 2</i>	8
RESULTAT.....	9
DEL 1.....	9
<i>Antibiotikaeksponering og økt risiko for NEK hos nyfødte og/eller premature</i>	9
DEL 2.....	12
<i>Tarmflora</i>	12
<i>Antibiotikaøkologi og resistens</i>	13
DISKUSJON.....	16
<i>Antibiotikaeksponering og risiko for NEK</i>	16
<i>Tarmflora og antibiotikaeksponering</i>	16
<i>Antibiotikaøkologi</i>	17
<i>Utfordringer ved systematiske artikkelsøk</i>	17
<i>Svakheter ved oppgaven</i>	18
KONKLUSJON.....	18
LITTERATURLISTE	19
VEDLEGG NR 1: ARBEIDSPROESSEN	22

Sammendrag

Formål: På nyfødt intensivavdelinger er antibiotika et av de hyppigst foreskrevne medikamentene, og ofte på empirisk grunnlag. Formålet med denne oppgaven var å undersøke hvilke kliniske og økologiske konsekvenser som er assosiert med antibiotikaeksponering hos nyfødte.

Metode: Oppgaven er et litteraturstudium, og er basert på gjennomgang av artikler hovedsakelig søkt fram i PubMed. Der er gjort et systematisk søk for å se på antibiotikaeksponering og assosiert risiko for utvikling av nekrotiserende enterokolitt, som ble valgt ut som et klinisk viktig endepunkt. Den delen av oppgaven som omhandler mikrobiota, antibiotikaøkologi og resistens er basert på flere usystematiske artikkelsøk i PubMed.

Resultat og konklusjon: Etter gjennomgang litteratur, valgt ut etter systematisk søk, konkluderes det med at antibiotikaeksponering kort tid før- eller etter fødsel er assosiert med signifikant risikoøkning for utvikling av nekrotiserende enterokolitt. Resultatene viser også at risikoøkningen øker når varigheten av empirisk antibiotikabehandling øker. Økt bruk av bredspektrede midler øker forekomst av resistens.

Introduksjon og Teori

Antibiotika er blant de hyppigst foreskrevne medikamenter i nyfødtavdelinger (1). Antibiotikabruk i de første ukene etter fødsel er sannsynligvis ugunstig fordi det sammenfaller med tiden da barnets tarm koloniseres med normalflorabakterier. Det er vist i flere studier gjengitt av Westerbeek et al (2) at bakteriekoloniseringen forsinkes, og at dette gjelder særlig for bakterier av den gunstige typen, slik som *Lactobacilli* og *Bifidobacteria*, som hos premature er detektert i lave antall. Antibiotikaeksponering er trolig en uavhengig faktor for økt morbiditet og mortalitet i nyfødtperioden, etter at man har korrigert for andre faktorer. Nekrotiserende enterokolitt (NEK) er en fryktet gastrointestinal akutt tilstand av multifaktoriell årsak hos nyfødte, og særlig utsatt er premature barn. Sepsis og invasive soppinfeksjoner er også fryktet ved nyfødtavdelinger og i en studie fant man en sterk assosiasjon mellom gjennomgått antibiotikabehandling og invasiv candidainfeksjon (3). Eksponering for antibiotika og senere risiko for utvikling av atopisk eksem, astma og allergi er også undersøkt og der er muligens en assosiasjon (4) uten at dette er tema i denne oppgaven. I denne oppgaven har fokus og tema vært todelt. Som det fremgår av oppgavetittelen var det ønskelig å undersøke hva slags konsekvenser tidlig antibiotikabehandling (like før fødsel eller tidlig etter fødsel) kan føre til, via den tarmflorapåvirkning antibiotikaeksponering utøver. I denne oppgaven har en ønsket å se på både kliniske og økologiske konsekvenser. I første del av oppgaven er hovedfokus å undersøke om der foreligger en dokumentert assosiasjon mellom tidlig antibiotikaeksponering og NEK som primære klinisk endepunkt, men også risiko for endepunkt som (sepsis av sen debut) og død i forbindelse med antibiotikaeksponering er belyst. I oppgavens andre del er resistensproblematikk gjennomgått da dette nesten er en uunngåelig problemstilling og stadig like aktuelt ved alle arenaer hvor antibiotika benyttes. På nyfødt intensivavdelinger med høyt forbruk av disse midler vil resistensutfordringer trolig bare øke i takt med den økte resistensforekomsten en observerer både i Europa og internasjonalt, og med den økt sykdomsbyrde som medfølger i form av økt morbiditet og mortalitet (5-7).

Antibiotikaeksponering og innvirkning på normal tarmkolonisering

Etablering av normalflora begynner straks etter fødsel. Faktorer som er påpekt å kunne påvirke og interferere med denne utviklingen deles inn i prenatale og postnatale faktorer. Noen studier har vist at forløsningsmetode ved fødsel, om barnet har fått morsmelk eller

morsmelkerstatning, og hvorvidt det har vært under antibiotikabehandling påvirker både sammensetning av tarmflora og diversitet. Barn som er forløst ved keisersnitt (8), som ernæres med morsmelkerstatning (9) og som er eksponert for antibiotika (9) har i studier vist redusert normalflora diversitet og dessuten også unormale koloniseringsmønstre med mindre antall av de gunstige bakterier slike som *Lactobacillus* og *Bifidobacteria*. Hos premature barn er det ofte en senere etablering av tarmflora, trolig på grunn av umodne organer.

Nekrotiserende enterokolitt (NEK)

NEK karakteriseres av skade på tarm som varierer fra slimhinneskade til nekrose som involverer hele tarmveggen tykkelse. Tilstanden rammer nyfødte, typisk i 2. eller 3. leveuke. Ekstremt premature barn (født før svangerskapsuke 28) og dysmature barn utgjør en stor risikogruppe, og disse står for 90 % av NEK-tilfellene (10). Hyppighet av NEK stiger dess lavere fødselsvekten er. Fullbårne barn kan også utvikle tilstanden, men dette er sjeldnere. Studier har vist at nyfødte som får morsmelk sjeldnere utvikler NEK sammenliknet med barn som får morsmelkerstatning (9). NEK er patofysiologisk av multifaktoriell årsak hvor tarmischemi, infeksjon og næring i tarmlumen er medvirkende faktorer (11). Tarmischemi kan være resultat av intrauterin hypoksi ved dårlig placentafunksjon. Perinatal asfyksi og postnatal sykdom med hypotensjon kan også være årsaker til iskemiske komplikasjoner. Premature har dessuten nedsatt infeksjonsmotstand og bakteriell overvekst i tarm kan etableres i den fasen hvor barnet etablerer tarmflora. Nedsatt tarmmotilitet og mangelfullt utviklede tarmzymer/hormoner gjør at næring i tarmhule hopper opp og blir også for sakte nedbrutt. Ofte er de initiale tegn på sykdom hos den nyfødte vanskelig å tolke, men tegn på NEK under utvikling kan involvere utspilt abdomen, dårlig fordøyelse og blod i avføring. Tilstanden utvikler seg ofte raskt og barnet kan utvikle sepsis og bli hemodynamisk ustabil, sirkulatorisk kollaps kan inntre. Mortaliteten er høy, mortalitetsrater opp i mot 50 % er rapportert i enkelte studier (12), dess lavere fødselsvekt, dess høyere mortalitetsrate.

Alvorlige infeksjoner og sepsis hos nyfødte - sjelden, men fryktet komplikasjon i nyfødtp perioden

Tegn på alvorlig infeksjon hos nyfødte er ofte uspesifikke, og selv for erfarne spesialister ofte vanskelig å diagnostisere. Bakteriemi kan foreligge uten at den nyfødte viser tegn på infeksjonssykdom. Ofte foreligger altså få objektive tegn for infeksjon og dette bidrar til at terskelen for å initiere rask empirisk antibiotikabehandling er lav. Varigheten av

antibiotikabehandling ved positiv blodkultur er kontroversiell, enda mer kontroversiell er behandlingstid i de tilfellene hvor blodkulturer er negative, men der det foreligger risikofaktorer eller andre indikasjoner som gjør at en frykter sepsissykdom.

Nyfødtsepsis deles tradisjonelt inn i en tidlig debuterende- og en sent debuterende form. Per definisjon inntreffer tidlig debut sepsissykdom hos barnet innen 72 timer etter fødsel. Tidlig debuterende sykdom er en av de vanligste årsakene til neonatal mortalitet og morbiditet. Insidensrater varierer noe i ulike studier fra 0,77 til 0,98 tilfeller per 1000 levendefødte (13, 14). Sepsis av sen debuterende form opptrer per definisjon etter 72 timer. Avhengig av hvor gammelt barnet er når det presenterer med symptomer og tegn på systemisk infeksjon er det noen viktige forskjeller i hvilke mikroorganismer som er de mest sannsynlige patogene agens. Ved sepsis av tidlig debuterende form skjer smitten oftest vertikalt fra mor til barn. Enten smittes barnet under selve fødselen, i det barnet passerer gjennom fødselskanalen og eksponeres for morens normalflora. Alternativt og kanskje oftere skjer smitte ved oppadstigende infeksjon fra vagina som kommer over i fostervann i det fosterhinnene ryker eller fødsel starter. Fosteret kan da aspirere fostervannet kontaminert med bakterier. Bakterier som hyppig forekommer som patogene agens ved tidlig sepsis inkluderer bl.a. følgende: *Streptococcus agalactiae* (Gruppe B-streptokokker) og *Escherichia coli*. Ved sen debut ses svært ofte infeksjoner med koagulasenegative stafylokokker (KNS). I tillegg til at infeksjoner med *E.coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella spp.*, *Pseudomonas spp.* eller *Enterobacter spp.* forekommer. KNS-infeksjoner er ofte assosiert med bruk av invasive katetere og dermed får bakterier vanligvis assosiert med hudflora en inngangsport inn til å skape infeksjon. Premature barn med nedsatt immunforsvar og invasive katetere er derfor ekstra utsatt for slike infeksjoner.

Antibiotikaøkologi og resistens

All bruk av antibiotika fører til seleksjon og fremvekst av resistente mikrober (15). Hyppig og ukritisk bruk av antibiotika, og da særlig av de bredspektrede midlene fremskynder denne prosessen. Inntil nylig var multiresistens hovedsakelig observert i grampositive bakterier, men fremvekst og spredning av multiresistente gramnegative bakterier har vært illevarslende nyheter gjennom de siste årene (7). Bredspektret antibiotikabruk er vist å kunne gi alvorlige, utilsiktede konsekvenser hos nyfødte med blant annet økt medikamentresistens i sepsistilfeller.

Materiale og metode

Oppgaven er et litteraturstudie og er basert på en gjennomgang hovedsakelig av artikler søkt frem i PubMed. Det er gjort flere artikkelsøk. Det har tatt tid å tilegne seg kunnskap om god søkestrategi og hvordan søk utformes i PubMed, men det poengteres at å lære noe om dette har i seg selv vært viktig læringsmål i arbeidet med denne oppgaven. Søkestrategi er diskutert med begge veiledere og bibliotekar ved Universitetsbibliotekets helsefagavdeling har vært hjelpelig i prosessen.

Spørsmålsformulering

Det ble forsøkt å utforme søk etter PICO-modellen med det formål å presisere spørsmålsformulering og problemstilling. Her står de fire bokstavene for ulike elementer, P for Population (Pasient/problem), I for Intervention (Eksponering), C for Comparison (Sammenlikning) og O for Outcome (Endepunkt). Metoden er ment å være et hjelpeverktøy tidlig i forberedelsene til et søk for å tydeliggjøre kjernes spørsmålet. De ulike elementene var også til nytte for å finne fram til søkeord som senere kunne benyttes i litteratursøket. Fremstilling av de ulike PICO-elementene er fremstilt i tabell 1 og 2.

Del 1: Kan antibiotikaeksponering øke risiko for NEK hos nyfødte og/eller premature?

Tabell 1: Fremstilling av de ulike PICO-elementene i første problemstilling.

Problemstilling	Population (P)	Intervention (I)	Comparison (C)	Outcome (O)
1	Nyfødte/ Premature	Antibiotika eksponering	Ingen antibiotika eksponering	Nekrotiserende enterokolitt

Søkestrategi og seleksjonskriterier for del 1

Det ble brukt en rekke søkeord og da hovedsakelig MeSH-termer (Medical Subject Headings) i ulike kombinasjoner for å finne fram til artikler. Poenget og/eller fordelene med å benytte MeSH i søk er at dette er standardiserte emneord som inkluderer synonymer og nærliggende termer innen medisin. Å finne fram til gode og dekkende MeSH-termer kan være utfordrende. I søket, som ble avsluttet 25.04.2014, ble følgende MeSH-termer benyttet: "Infant, Newborn", "Infant, Premature", "Anti-Bacterial Agents" og "Enterocolitis, Necrotizing". I søket måtte tre av de fire nevnte MeSH-termer være med, det betyr at enten "Infant, Newborn" eller

"Infant, premature" måtte være med, i tillegg til de to andre listede. Forhåndsbestemte inklusjons- og eksklusjonskriterier ble som følger: Artikler eldre enn fra 01.01.1994 er ekskludert, i likhet med dyrestudier. Bare engelskspråklige artikler er inkludert. Det ble bestemt å ikke skille mellom antibiotikaeksponering antenatalt og postnatalt. Primært endeutfall skulle være NEK, død eller sen debut sepsis. Det var ønskelig å inkludere bare randomiserte kontrollerte studier, men dette begrenset søket så mye at en åpnet for å inkludere andre studieformer. Søket, med de ovennevnte søkeord og søkefilter som beskrevet over, ga 57 treff. Etter gjennomgang av disse, på bakgrunn av tittel, abstract og/eller fulltekst, fant jeg at kun 5 av disse artiklene oppfylte de bestemte inklusjonskriteriene. Det ble i tillegg gjort et usystematisk søk for å finne flere artikler som omhandlet andre risikofaktorer.

Del 2: Hvilken betydning har antibiotikaeksponering på den tarmflora, antibiotikaøkologi og resistensproblematikk på nyfødt intensivavdelinger?

Tabell 2: Fremstilling av de ulike PICO-elementene i del 2.

Problemstilling	Population (P)	Intervention (I)	Comparison (C)	Outcome (O)
2	Nyfødte/ Premature	Antibiotika eksponering	Ingen antibiotika eksponering	Tarmflora, Antibiotikaøkologi og Resistens

Søkestrategi og seleksjonskriterier for del 2

Litteratur er her basert på et skjønsmessig utvalg søkt frem i PubMed, i samarbeid med veiledere. Søkeord som har vært benyttet er bl.a. MeSH-termene: "Anti-bacterial agents", "Drug resistance" og "Infant, newborn".

Resultat

Del 1

Antibiotikaeksponering og økt risiko for NEK hos nyfødte og/eller premature

Fem studier ble inkludert for videre analyse. Fire av fem studier omhandlet antibiotikaeksponering postnatale. Alle fremsatte hypoteser om økning i risiko for NEK som følge av antibiotikaeksponering med oppstart av empirisk behandling innen få døgn etter fødsel, og at denne risikoen økte med varigheten av eksponering. Tre av studiene var retrospektive kohortestudier, en var en case-control studie og en studie omhandlet antenatal antibiotikaeksponering og risiko for NEK. Oversikt over inkluderte studier er presentert i tabell 3 og 4.

Tabell 3: Presentasjon over inkluderte kohortestudier om antibiotikaeksponering og assosiert økt risiko for NEK. Odds ratio (OR) henspiller til observert risikoendring for NEK som følge av empirisk antibiotikaeksponering (Odds per dag på antibiotikabehandling).

Forfatter, år Kohortestudie	Gestasjonsalder/ Fødselsvekt	Initial empirisk AE (n)	Forlenget empirisk AE (n)	Resultat OR (95% KI)
Abdel Ghany EA et al. 2012 (16)	700-1500 g.	207 (100 %)	173 (83,6 %)	1,32 (1,05-1,65) p=0,018 Signifikant risikoøkning
Cotten CM et al. 2009 (17)	401-1000 g.	4039 (100%)	2147 (53 %)	1,07 (1,04-1,10) p<0,001 Signifikant risikoøkning
Kuppala VS et al. 2009 (18)	≤ 32 uker/ ≤ 1500g.	365 (100%)	131 (36%)	1.08 (0.83-1.40) p=0,57 Ingen signifikant risikoendring

AE: Antibiotikaeksponering

Forlenget empirisk AE: Empirisk behandling i ≥ 5 dager.

Tabell 4: Presentasjon over inkluderte retrospektive case-control studier. Risikoendring for NEK assosiert med antibiotikaeksponering som Odds ratio (OR).

Forfatter, år, Case-control	Gestasjonsalder/ Fødselsvekt	Populasjon samlet (n)	NEC (n)	Kontroll (n)	Resultat OR (95% CI)
Alexander VN et al. 2011 (19)	25 - 31 uker/ 600 - 1700 g.	372	124	248	1.10 (1.02-1.19) p=0,01 Signifikant risikøkning
Weintraub AS et al. 2012 (20)	25 - 33 uker/ 715- 2000 g.	194	97	97	2.3 (1.1-4.8)* p=0,003 Signifikant risikøkning

* OR for NEK etter antenatal eksponering for ampicillin

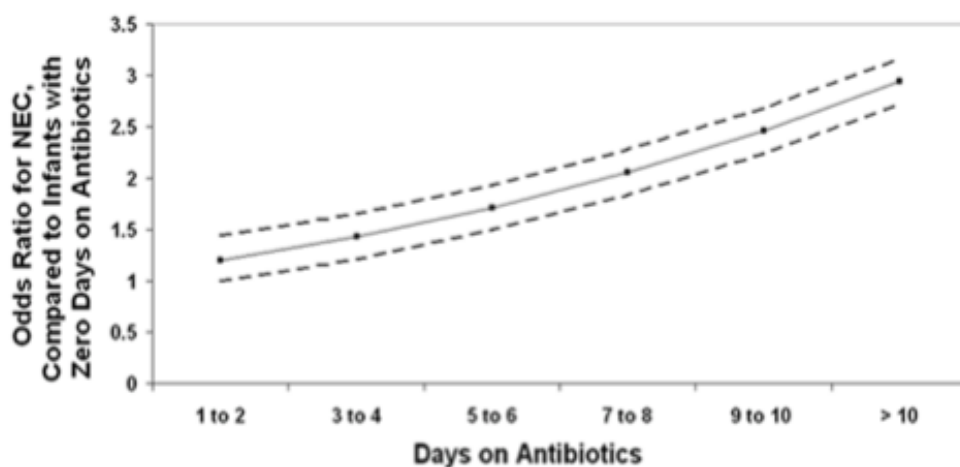
Abdel et al. (16) fant at hver ekstra empiriske behandlingsdag med antibiotika var assosiert med en signifikant økning i odds ratio for både NEK (OR 1.32, KI 1.05-1.65) og død (OR 1.45, KI 1.24-1.69). Alle hadde fått kombinasjonsbehandling med ampicillin og gentamicin. Følgende karakteristika var assosiert ved de nyfødte som fikk forlenget empirisk antibiotikabehandling: lav fødselsvekt, lav gestasjonsalder og dessuten oftere lav Apgar score. Alle de 34 nyfødte i studien som utviklet NEK hadde vært antibiotikabehandlet i over fem dager, videre gjaldt dette også alle de 80 nyfødte som døde.

Cotten et al. (21) inkluderte 4039 nyfødte (fødselsvekt 401-1000 gram) som fikk initial empirisk antibiotikabehandling og som hadde sterile blodkulturer gjennom de tre første levedøgn. 3881 av disse ble behandlet med kombinasjon av to antibiotika, hyppigst ampicillin og gentamicin i kombinasjon. 2147 av barna mottok forlenget empirisk behandling (≥ 5 dager) på tross av sterile blodkulturer. Totalt 440 av de inkluderte barna utviklet NEK. Lengre varighet av initial empirisk antibiotikabehandling var hyppigere assosiert med NEK eller død og NEK alene, sammenliknet med kortere varighet av initial empirisk antibiotikabehandling. Risikøkning for NEK for hver ekstra dag med antibiotikaeksponering ble funnet å være 7 % (OR 1.07, KI 1.04-1.10).

Kuppala et al. (18) inkluderte 365 nyfødte i en retrospektiv case-kontroll studie. De nyfødte ble kategorisert i tre grupper: 0 dager med initial empirisk antibiotikabehandling (n=60), 1-4 dager med antibiotikabehandling (n=175) og ≥ 5 dager (n=130) med antibiotikabehandling. Kombinasjonsbehandling ampicillin og gentamicin ble benyttet. Forlenget antibiotikaeksponering (≥ 5 dager) ble funnet som uavhengig faktor å være assosiert med

signifikant risikøkning for sepsis av sen debut, NEK, eller død (OR 2.66, KI 1.12-6.30). Antall NEK-tilfeller alene var for lite til å gjøre analyser med dette som alene endepunkt.

Alexander et al. (19) paret i en retrospektiv 2:1 case-kontroll analyse 124 NEK tilfeller med 248 kontroller, som var jevnbyrdige hva gjaldt gestasjonsalder, fødselsvekt og fødselsår. Antibiotikaeksponering ble funnet å være en uavhengig risikofaktor for NEK også her (OR 1.10, KI 1.02-1.19). Alexander et al. observerte en jevnt stigende risikøkning for utvikling av NEK når varigheten av kumulativ antibiotika eksponering økte. Over 10 dager med eksponering resulterte i en nær tredobling i risiko for NEK-utvikling, se figur 1.



Figur 1: OR for å utvikle NEK (y-akse) når den varighet av antibiotikaeksponering øker (x-akse) hos nyfødte uten en dyrkningsbekreftet sepsis. (19)

Weintraub et al. (20) er eneste av de fem inkluderte studiene som har undersøkt om der foreligger mulig assosiasjon mellom antenatal antibiotikaeksponering og insidens av NEK. 97 nyfødte med NEK ble paret med kontroller uten NEK, men som ellers var like når det gjaldt gestasjonsalder, fødselsvekt og fødselsår. Resultatene til Weintraub et al. viste at nyfødte som utviklet NEK oftere hadde vært utsatt for antenatal ampicillineksponering (alene eller i kombinasjon med andre antibiotika) enn kontrollene (OR 2.8, KI 1.4-5.8).

Del 2

Tarmflora

En rekke studier har undersøkt utvikling og dynamikk i tarmflora og sammenliknet funn i ulike grupper nyfødte. Slike studier har sine begrensninger. Sammenlikning av metoder viser at standard dyrkningsteknikk har sin klare ulempe med at over 90 % av artene forblir uoppdaget, i tillegg til at metoden ikke kan benyttes i analyser for kvantifisering. Nyere molekylære teknikker gjør det mulig å detektere flere arter, men har andre ulemper med at de er tidkrevende, kostbare og krever avansert utstyr i tillegg til at disse genererer enorme datamengder som krever bearbeiding (22).

Som allerede nevnt innledningsvis er patofysiologien multifaktoriell når det gjelder NEK. Når det gjelder undersøkelser for å identifisere patologiske agens ved NEK er forsøkene mange, men verken standard dyrkningsmetoder eller molekylære tilnærminger har identifisert en enkelt mikrobiell årsak til NEK, og i de studier som er gjort spriker resultatene. I en studie ble Stafylokokker identifisert å dominere ved NEK, men bare ved standard dyrkning, i samme studie lykkes det nemlig ikke å bekrefte dette funn ved hjelp av molekylære metoder (23). En annen studie rapporterte om økning i bærerskap av *Klebsiella spp.*, *Pseudomonas spp.* og *Proteus spp.* (24) og spekulerte i om tilstedeværelse av disse kunne være risikofaktorer for NEK. Andre har rapportert om at samlet mikrobiota profiler i NEK-tilfeller ikke har skilt seg fra den observert i kontrollkasus (25).

Tarmflora spiller trolig en nøkkelrolle i etablering av tarmbarriere og dens integritet. Mikrofloraen stimulerer immunsystemet i tarmen og det opprettes en toleranse mellom immunsystemet og normalflora. Svekket tarmbarriere, gjennom økt tarmpermeabilitet og dermed økt risiko for bakteriell translokasjon til systemiske organer og vev, bidrar trolig til utvikling av både NEK og sepsis av sen debut. Mai et al. (26) sammenliknet avføringsprøver fra premature som hadde fått diagnostisert sepsis av sen debut med friske kontroller, og fant lavere antall *Bifidobacteria* bakterier i prøver fra de syke. I den premature tarm vil dessuten både strukturell og immunologisk umodenhet kunne bidra til nekrose og unormal bakteriell kolonisering. Antibiotikaeksponering reduserer tarmfloraens diversitet, dette er funnet hos nyfødte av mødre som har fått antibiotika (25). Antibiotika kan forsinke og/eller suppressere kolonisering av fordelaktige arter, og gjør tarmen sårbar hos den nyfødte.

Nyfødte eksponeres for morens vaginale flora og tarmmikroflora i mye større grad ved vaginal fødsel enn barn forløst ved keisersnitt. Dominguez-Bello et al. (8) fant at vaginalt forløste nyfødte ervervet mikroflora som liknet morens vaginale mikroflora, dominert av bl.a. *Lactobacillus*, mens tarmflora til barn forløst ved keisersnitt oftere var likt morens hudflora, dominert av *Staphylococcus spp.* (8).

Gewolb et al. (9) samlet inn avføringsprøver fra nyfødte med lav fødselsvekt med mål om å korrelere koloniseringsmønster til kliniske risikofaktorer. Et viktig funn i denne studien var at prøvene fra spedbarn som fikk morsmelk viste større bakteriell diversitet sammenliknet med de barn som fikk morsmelkerstatning (9) og denne diversiteten er trolig viktig. Morsmelk inneholder flere viktige immunkomponenter som immunoglobuliner, cytokiner og laktoferrin som alle har betydning for modning av immunsystemet. Oligosakkarider i morsmelk stimulerer vekst av fordelaktige *Bifidobacteria spp.* (27).

Eksponering for antibiotika reduserer intestinal mikroflora diversitet og forsinker kolonisering med gunstige bakterier og dermed potensielt øke risiko for NEK utvikling. Resultatene til Cotten et al. (17) er allerede gjennomgått i del 1, men viste altså at hver dag med empirisk antibiotikaeksponering var assosiert med økt risiko for utfallene: død, NEK og kombinert utfall NEK og død.

Antibiotikaøkologi og resistens

En svært høy andel av nyfødte, som havner på nyfødt intensivavdelinger, mottar empirisk antibiotikabehandling de første dagene etter fødsel til tross for sterile kulturer. Dette gjelder særlig de med veldig lav fødselsvekt. Hele 95 % av spedbarn som innlegges mottar empirisk antibiotikabehandling, bare 1-5 % har initiale positive blodkulturer (17). Bruk av bredspektrede antibakterielle midler er assosiert med økt antimikrobiell resistens, det er dokumentert i en rekke studier. I en studie sammenliknet man to antibiotikaregimer ved en nyfødt intensivavdeling og konkluderte med at relativ risiko for kolonisering med resistente bakteriestammer til det empiriske antibakterielle behandling var 18 (95 % KI 5.6-58.0) ganger høyere for amoxicillin-cefotaxime regimet sammenliknet med penicillin-tobramycin regimet. Det siste anses som et mer smalspektret kombinasjonsregime (28). Utarbeiding av og etterfølgelse av retningslinjer omkring valg av antibiotika er viktig, og det finnes mange eksempler. (15). En nasjonal multisenterstudie fra Nederland, publisert så sent som i 2010,

evaluerte antibiotikabruken ved de ulike senter. Studien konkluderte med stor variasjon både når det gjaldt total mengde brukt antibiotika og antall ulike benyttede antibiotika typer (29).

Parallelt med nedgang i insidens av tidlig GBS-mediert sykdom blant nyfødte (etter innføring av intrapartum antibiotikaprofylakse), har det samtidig vært rapportert om økning i insidens av *E.coli*-mediert sepsissykdom blant premature, inkludert ampicillin-resistent *E.coli*. Intrapartum ampicillin eksponering som uavhengig risikofaktor for ampicillin-resistent *E.coli*-sykdom med tidlig debut er funnet (30). Altså er dette et eksempel på at intrapartum antibiotikaeksponering kan øke insidensen av neonatal sepsis forårsaket av virulente og resistente patogener. Systematisk screening for GBS av alle gravide i svangerskapsuke 35-37 og påfølgende antibiotikaprofylakse dersom positivt screeningsresultat er anbefalt i noen land, blant annet USA (31). Rutinemessig intrapartum antibiotikaprofylakse med formål å forhindre tidlig GBS-sepsis er imidlertid ikke uproblematisk, for eksempel med tanke på resistensutvikling blant GBS-stammer. I Norge benyttes en annen tilnærming for å identifisere kvinner som skal tilbys antibiotikaprofylakse. Indikasjon for antibiotikaprofylakse gis bare dersom spesielle definerte risikofaktorer foreligger. Dette innebærer bl.a. profylakse ved fostervannsavgang uten rier før 37 uker, og under fødsel til kvinner (uansett svangerskapsvarighet) som tidligere har født barn med neonatal GBS-sykdom eller har fått påvist GBS i urinen under det aktuelle svangerskap. Førstevalg for å forebygge GBS-sykdom under fødsel er benzylpenicillin iv, eller ved penicillinallergi clindamycin iv. Ampicillin er frarådet å bruke (32).

Blant premature barn som ikke har fullt utviklet immunsystem er KNS hyppigste isolerte agens ved sepsis av sen debut (33). Hovedsakelig skjer smitten horisontalt og risiko for utvikling av KNS-sykdom er økt ved bruk av sentrale venekatetre, ved mekanisk ventilasjonsstøtte og invasive prosedyrer. KNS har andre virulensfaktorer enn koagulasepositive stafylokokker som f.eks. *S. aureus*. Hos *Staphylococcus epidermidis* er dannelsen av biofilm betraktet som dens viktigste virulensfaktor (34). Ikke alle stammer av *S. epidermidis* produserer biofilm, men de slimproduserende er oftere resistente til en hel rekke antibakterielle midler sammenliknet med ikke-produserende stammer. Biofilmen kan utgjøre en nærmest ugjennomtrengelig barriere, men ikke bare for antibiotika. KNS biofilmproduserende stammer er også assosiert med nedsatt inflammatorisk respons, målt ved CRP som markør for respons (35). Økt antibiotikaresistens blant KNS utgjør et betydelig problem. I en studie som over en 12-årsperiode undersøkte aminoglykosid resistens i

blodkulturisolater av KNS, på en enkelt nyfødtavdeling i Norge, ble det funnet høy forekomst av aminoglykosid resistens og at denne aminoglykosidresistensen ofte var assosiert med meticillinresistens (36). En oversiktsartikkel (37) understreker tydelig at nosokomiale *S.epidermidis* isolater hyppig karakteriseres ved multiresistens mot mange av dagens mest brukte antibakterielle midler. Meticillinresistens hos *S.epidermidis* (MRSE) medieres som i *S.aureus* av *mecA* genet som koder for et penicillinbindende protein med redusert affinitet for betalaktamer. *mecA* genet er lokalisert på store DNA elementer betegnet "kassetter", mer spesifikt "staphylococcal cassette chromosome *mec*" (SCC*mec*). SCC*mec* har blitt vist å kunne overføres mellom ulike stafylokokker ved horisontal genoverføring (38) og er eksempel på utveksling av genetisk materiale via mobile DNA elementer bakterier i mellom.

S.aureus er nest vanligste patologiske agens ved sepsis med sen debut, også her er barna med lavest fødselsvekt og premature de klart mest utsatte (39). *S.aureus* er bare sjelden det patologiske agens ved systemisk sykdom av tidlig debut. Fremvekst av meticillinresistente *S.aureus* (MRSA) har mange steder vært et økende problem lenge (40). Det er rapportert om at neonatale systemiske MRSA infeksjoner er assosiert med signifikant høyere mortalitetsrate sammenliknet med meticillinsensitive *S.aureus* (MSSA) infeksjoner (41). Flere studier er gjort for å se på effekt av resistens på virulens, mange av disse har sammenliknet morbiditet og mortalitet mellom MRSA og MSSA. En metaanalyse fra 2003 konkluderte med at MRSA infeksjoner var assosiert med klart høyere morbiditet og mortalitet enn MSSA infeksjoner (42).

Invasiv *Candida* infeksjon er uvanlig og sjelden hos nyfødte med fødselsvekt >1500 gram. En studie rapporterte insidensen å være 0,6 per 1000 nyfødte (43) i den nevnte gruppen. Insidensen er betydelig høyere ved lavere fødselsvekt og medfører til tross for antimykotisk behandling mortalitetsrater på 20 % vanlig og medfører sekveler hos nær 60 % av de som overlever (44). Blant identifiserte risikofaktorer er eksponering for bredspektrede antibakterielle midler som f.eks. tredje generasjons cefalosporiner, med økt risiko når antall behandlingsdager øker. Dette var ett av resultatene i en kohortestudie hvor 1515 nyfødte med fødselsvekt ≤1000 ble inkludert, 137 av disse (9%) utviklet dokumentert invasiv *Candida* infeksjon (3).

Diskusjon

Antibiotikaeksponering og risiko for NEK

Flere av studiene (16-20) deler noen av de samme svakhetene. En av disse er at de fleste ikke har sammenliknet utfall av forskjellige antibiotikaregimer, da ampicillin og gentamicin kombinasjonen er det som er brukt mest. Dessuten er det videre mulig at den risikoassosiasjonen en har funnet koblet mellom endepunkt som NEK og lengre varighet av empirisk antibiotikabehandling kan bety at en ikke fullt ut har lykket i å korrigere for alle faktorer som kan påvirke risiko. Flere potensielt konfunderende faktorer er til stede. Det er derfor mulig at varighet av antibiotikaeksponering i seg selv er ett uttrykk for alvorligere sykdomsgrad og at denne gruppen allerede har en økt risiko for NEK i utgangspunktet. Videre mangler for eksempel informasjon om mulig antenatal steroideksponering og maternell intrapartum antibiotikabruk som en ikke kan avskrive har innvirkning på risiko.

Studien til Cotten et al. (17) utmerker seg da de har et stort antall inkluderte pasienter. Nettopp antallet inkluderte pasienter er en svakhet for samtlige andre av de fire inkluderte studier og reduserer deres styrke. Til tross for ulikheter i antall inkluderte pasienter i studiene er Kuppala et al. (18) den eneste av fem inkluderte studier som ikke klarer å vise til en statistisk signifikant sammenheng mellom varighet av antibiotika eksponering og NEK som alene endepunkt, muligens på grunn av et for lite pasientantall. Kuppala et al. (18) klarer imidlertid å vise til en signifikant risikoøkning når endepunktene NEK, sen debut sepsis eller død slås sammen.

Tarmflora og antibiotikaeksponering

Tarmfloraetablering er vist å være under påvirkning av flere faktorer; forløsningsmetode, type ernæring (morsmelk vs. morsmelkerstatning), og antibiotika eksponering. Normal tarm mikrobiota hos den nyfødte er viktig for normal utvikling og modning av tarmens immunresponser. Tarmflora er nøkkel til utvikling av barrierefunksjoner i tarm, integritet, og slimhinne- og systemisk medierte immunfunksjoner. Trolig er det slik at normal tarmflora, dominert av *Bifidobacteria* og *Lactobacilli* undertrykker vekst av potensielle patogener. Forstyrrelser i tarmfloraetablering som følge av antibiotikaeksponering synes å være assosiert med økt morbiditet og mortalitet hos nyfødte med økt risiko for sepsis av sen debut, NEK og død.

I litteraturen presenteres potensielt flere modifiserbare risikofaktorer for utvikling av NEK. Forlenget varighet av antibiotikaeksponering er assosiert med en økt risiko for NEK blant nyfødte, men forsøk på å studere effekter av spesifikke antibiotika på mikrobiota i relasjon til utvikling av NEK er påpekt å være både vanskelig og forsøk i litteraturen begrenset.

Antibiotikaøkologi

På nyfødt intensivavdelinger er det høy risiko for seleksjon og overføring av multiresistente organismer pga. høyt forbruk av antibakterielle midler. Tilgjengelighet på effektive antibiotika kan bli begrenset ved utvikling av resistente organismer. Evaluering av antibiotikabruk er viktig. Detaljert kjennskap om hvilke midler som benyttes og hvor mye kvanta som brukes av antibiotika i en definert kortere periode er helt avgjørende å kjenne til for å kunne si noe om trender og utvikling over lengre perioder. Det kan være nyttig å sammenlikne like avdelinger. Likeledes er det svært viktig å fortsette å monitorere resistenssituasjonen. Både nasjonalt og internasjonalt samarbeid om disse oppgavene må opprettholdes for å møte utfordringene på best mulig måte. KNS og hovedsakelig *S. epidermidis* er blant hyppigst forekommende agens i nyfødt intensivavdelinger. Multiresistens hos KNS mot hyppigst brukte antibakterielle midler utgjør et betydelig problem. De senere år har en begynt å skjønne hvordan resistensgener kan overføres ved horisontal genoverføring mellom ulike stafylokokker via mobile genetiske elementer. Fokus forebygging av MRSA-spredning er i dag stort, men der foreligger i dag også tilstrekkelig dokumentasjon for at økt fokus også for forebygging av MRSE-spredning burde komme på dagsorden.

Utfordringer ved systematiske artikkelsøk

Det viste seg tidlig at systematiske artikkelsøk kan være utfordrende av flere grunner. For det første; siden både kliniske og økologiske konsekvenser som følge av antibiotikaeksponering i nyfødtperioden skal gjennomgås og belyses så ble det vanskelig å inkludere alt i ett enkelt søk. En spissere og mer avgrenset problemstilling ville gjort det lettere å gjøre et systematisk søk. Videre var det utfordrende fordi det var ønskelig å se på flere mulige kliniske konsekvenser og dette medførte at utformingen av søket dermed kunne se ut å bli ytterligere mer kompleks. Å utforme et søk med bare ett enkelt endepunkt for en intervensjon (her antibiotikaeksponering) kan være utfordrende nok i seg selv. I prosessen med planlegging av søk var det flere mulige endepunkt som var ønskelig å inkludere i et søk.

Denne oppgaven er ikke noen systematisk oversikt, men det er likevel sett på hvilke metodiske krav som stilles til slike oversiktsartikler i dag. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement er en artikkel skrevet av flere forfattere fra ulike miljøer og inneholder en nøye sjekkliste med 27 punkter og omhandler hva som skal være med, og hvordan en systematisk oversikt skrives (45).

Svakheter ved oppgaven

Å studere og kartlegge normalflora er utfordrende. Den kanskje aller største utfordringen er det faktum at en fortsatt har begrensede metoder og/eller molekylære teknikker for påvisning og kvantifisering av mikroorganismer som en har begrensede eller kanskje til og med ingen kunnskaper om. Forsøk på kartlegging av normalflora blir da ikke fullstendige og eventuell betydning av arter enn ikke vet mye om forblir ukjent. Imidlertid vil nyere molekylærgenetiske analysemetoder gjøre at man kan overgå disse begrensningene som før har vært der. Videre er få studier gjort for å studere effekten av spesifikke antibiotika på nyfødtes normalflora. Derfor er kunnskapsgrunnlaget noe snevert enda og det er vanskelig, for ikke å si umulig, å forsøke å konkludere noe sikkert om slike effekter.

Konklusjon

De gjennomgåtte studier har vist at langvarig empirisk antibiotikabehandling uten at det er verifisert en invasiv infeksjon (negative blodkulturer) med all sannsynlighet ikke er gunstig, og kan øke risiko for både kliniske og økologiske uheldige konsekvenser. Dette i form av økt forekomst for både NEC, sepsis og død, i tillegg økt forekomst av resistensutvikling. Antall dager med empirisk antibiotikabehandling bør reduseres i størst mulig grad både for å redusere klinisk uheldige effekter (NEK, sen debut sepsis og død) samt uheldige effekter på tarmflora og økt risiko for utvikling av resistente mikrober.

Litteraturliste

1. Clark RH, Bloom BT, Spitzer AR, Gerstmann DR. Reported medication use in the neonatal intensive care unit: data from a large national data set. *Pediatrics*. 2006;117(6):1979-87.
2. Westerbeek EA, van den Berg A, Lafeber HN, Knol J, Fetter WP, van Elburg RM. The intestinal bacterial colonisation in preterm infants: a review of the literature. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)*. 2006;25(3):361-8.
3. Benjamin DK, Jr., Stoll BJ, Gantz MG, Walsh MC, Sanchez PJ, Das A, et al. Neonatal candidiasis: epidemiology, risk factors, and clinical judgment. *Pediatrics*. 2010;126(4):e865-73.
4. Sobko T, Schiott J, Ehlin A, Lundberg J, Montgomery S, Norman M. Neonatal sepsis, antibiotic therapy and later risk of asthma and allergy. *Paediatric and perinatal epidemiology*. 2010;24(1):88-92.
5. de Kraker ME, Wolkewitz M, Davey PG, Koller W, Berger J, Nagler J, et al. Burden of antimicrobial resistance in European hospitals: excess mortality and length of hospital stay associated with bloodstream infections due to *Escherichia coli* resistant to third-generation cephalosporins. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2011;66(2):398-407.
6. de Kraker ME, Wolkewitz M, Davey PG, Koller W, Berger J, Nagler J, et al. Clinical impact of antimicrobial resistance in European hospitals: excess mortality and length of hospital stay related to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bloodstream infections. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2011;55(4):1598-605.
7. Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, Bagaria J, Butt F, Balakrishnan R, et al. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *The Lancet infectious diseases*. 2010;10(9):597-602.
8. Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Fierer N, et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2010;107(26):11971-5.
9. Gewolb IH, Schwalbe RS, Taciak VL, Harrison TS, Panigrahi P. Stool microflora in extremely low birthweight infants. *Archives of disease in childhood Fetal and neonatal edition*. 1999;80(3):F167-73.
10. Lin PW, Stoll BJ. Necrotising enterocolitis. *Lancet*. 2006;368(9543):1271-83.
11. Thompson AM, Bizzarro MJ. Necrotizing enterocolitis in newborns: pathogenesis, prevention and management. *Drugs*. 2008;68(9):1227-38.
12. Luig M, Lui K. Epidemiology of necrotizing enterocolitis--Part II: Risks and susceptibility of premature infants during the surfactant era: a regional study. *Journal of paediatrics and child health*. 2005;41(4):174-9.
13. Weston EJ, Pondo T, Lewis MM, Martell-Cleary P, Morin C, Jewell B, et al. The burden of invasive early-onset neonatal sepsis in the United States, 2005-2008. *The Pediatric infectious disease journal*. 2011;30(11):937-41.
14. Stoll BJ, Hansen NI, Sanchez PJ, Faix RG, Poindexter BB, Van Meurs KP, et al. Early onset neonatal sepsis: the burden of group B Streptococcal and *E. coli* disease continues. *Pediatrics*. 2011;127(5):817-26.

15. Russell AB, Sharland M, Heath PT. Improving antibiotic prescribing in neonatal units: time to act. *Archives of disease in childhood Fetal and neonatal edition*. 2012;97(2):F141-6.
16. Abdel Ghany EA, Ali AA. Empirical antibiotic treatment and the risk of necrotizing enterocolitis and death in very low birth weight neonates. *Annals of Saudi medicine*. 2012;32(5):521-6.
17. Cotten CM, Taylor S, Stoll B, Goldberg RN, Hansen NI, Sanchez PJ, et al. Prolonged duration of initial empirical antibiotic treatment is associated with increased rates of necrotizing enterocolitis and death for extremely low birth weight infants. *Pediatrics*. 2009;123(1):58-66.
18. Kuppala VS, Meinzen-Derr J, Morrow AL, Schibler KR. Prolonged initial empirical antibiotic treatment is associated with adverse outcomes in premature infants. *The Journal of pediatrics*. 2011;159(5):720-5.
19. Alexander VN, Northrup V, Bizzarro MJ. Antibiotic exposure in the newborn intensive care unit and the risk of necrotizing enterocolitis. *The Journal of pediatrics*. 2011;159(3):392-7.
20. Weintraub AS, Ferrara L, Deluca L, Moshier E, Green RS, Oakman E, et al. Antenatal antibiotic exposure in preterm infants with necrotizing enterocolitis. *Journal of perinatology : official journal of the California Perinatal Association*. 2012;32(9):705-9.
21. Cotten CM, Smith PB. Duration of empirical antibiotic therapy for infants suspected of early-onset sepsis. *Current opinion in pediatrics*. 2013;25(2):167-71.
22. Berrington JE, Stewart CJ, Embleton ND, Cummings SP. Gut microbiota in preterm infants: assessment and relevance to health and disease. *Archives of disease in childhood Fetal and neonatal edition*. 2013;98(4):F286-90.
23. Smith B, Bode S, Skov TH, Mirsepasi H, Greisen G, Kroghfelt KA. Investigation of the early intestinal microflora in premature infants with/without necrotizing enterocolitis using two different methods. *Pediatric research*. 2012;71(1):115-20.
24. Bjorkstrom MV, Hall L, Soderlund S, Hakansson EG, Hakansson S, Domellof M. Intestinal flora in very low-birth weight infants. *Acta paediatrica (Oslo, Norway : 1992)*. 2009;98(11):1762-7.
25. Mshvildadze M, Neu J, Shuster J, Theriaque D, Li N, Mai V. Intestinal microbial ecology in premature infants assessed with non-culture-based techniques. *The Journal of pediatrics*. 2010;156(1):20-5.
26. Mai V, Torrazza RM, Ukhanova M, Wang X, Sun Y, Li N, et al. Distortions in development of intestinal microbiota associated with late onset sepsis in preterm infants. *PloS one*. 2013;8(1):e52876.
27. Torrazza RM, Neu J. The altered gut microbiome and necrotizing enterocolitis. *Clinics in perinatology*. 2013;40(1):93-108.
28. de Man P, Verhoeven BA, Verbrugh HA, Vos MC, van den Anker JN. An antibiotic policy to prevent emergence of resistant bacilli. *Lancet*. 2000;355(9208):973-8.
29. Liem TB, Krediet TG, Fleer A, Egberts TC, Rademaker CM. Variation in antibiotic use in neonatal intensive care units in the Netherlands. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2010;65(6):1270-5.
30. Bizzarro MJ, Dembry LM, Baltimore RS, Gallagher PG. Changing patterns in neonatal *Escherichia coli* sepsis and ampicillin resistance in the era of intrapartum antibiotic prophylaxis. *Pediatrics*. 2008;121(4):689-96.

31. Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of perinatal Group B Streptococcal Disease. MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report. 2010 Contract No.: RR-10.
32. Veileder i fødselshjelp 1994. Tromsø/Oslo/Bergen: Norsk gynekologisk forening, Den norske lægeforening. 2014.
33. Marchant EA, Boyce GK, Sadarangani M, Lavoie PM. Neonatal sepsis due to coagulase-negative staphylococci. *Clinical & developmental immunology*. 2013;2013:586076.
34. Otto M. Virulence factors of the coagulase-negative staphylococci. *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library*. 2004;9:841-63.
35. Klingenberg C, Aarag E, Ronnestad A, Sollid JE, Abrahamsen TG, Kjeldsen G, et al. Coagulase-negative staphylococcal sepsis in neonates. Association between antibiotic resistance, biofilm formation and the host inflammatory response. *The Pediatric infectious disease journal*. 2005;24(9):817-22.
36. Klingenberg C, Sundsfjord A, Ronnestad A, Mikalsen J, Gaustad P, Flaegstad T. Phenotypic and genotypic aminoglycoside resistance in blood culture isolates of coagulase-negative staphylococci from a single neonatal intensive care unit, 1989-2000. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2004;54(5):889-96.
37. Ziebuhr W, Hennig S, Eckart M, Kranzler H, Batzilla C, Kozitskaya S. Nosocomial infections by *Staphylococcus epidermidis*: how a commensal bacterium turns into a pathogen. *International journal of antimicrobial agents*. 2006;28 Suppl 1:S14-20.
38. Hanssen AM, Kjeldsen G, Sollid JU. Local variants of Staphylococcal cassette chromosome mec in sporadic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant coagulase-negative Staphylococci: evidence of horizontal gene transfer? *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2004;48(1):285-96.
39. Vergnano S, Menson E, Smith Z, Kennea N, Embleton N, Clarke P, et al. Characteristics of Invasive *Staphylococcus aureus* in United Kingdom Neonatal Units. *The Pediatric infectious disease journal*. 2011;30(10):850-4.
40. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, Data Summary from January 1990-May 1999, issued June 1999. A report from the NNIS System. *American journal of infection control*. 1999;27(6):520-32.
41. Isaacs D, Fraser S, Hogg G, Li HY. *Staphylococcus aureus* infections in Australasian neonatal nurseries. *Archives of disease in childhood Fetal and neonatal edition*. 2004;89(4):F331-5.
42. Cosgrove SE, Sakoulas G, Perencevich EN, Schwaber MJ, Karchmer AW, Carmeli Y. Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia: a meta-analysis. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2003;36(1):53-9.
43. Lee JH, Hornik CP, Benjamin DK, Jr., Herring AH, Clark RH, Cohen-Wolkowicz M, et al. Risk factors for invasive candidiasis in infants >1500 g birth weight. *The Pediatric infectious disease journal*. 2013;32(3):222-6.
44. Benjamin DK, Jr., Stoll BJ, Fanaroff AA, McDonald SA, Oh W, Higgins RD, et al. Neonatal candidiasis among extremely low birth weight infants: risk factors, mortality rates, and neurodevelopmental outcomes at 18 to 22 months. *Pediatrics*. 2006;117(1):84-92.
45. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. *Annals of Internal Medicine*. 2009;151(4):264-9.

Vedlegg nr. 1: Arbeidsprosessen

Arbeidet med denne litteraturoppgaven kan deles inn i ulike faser:

- planlegging av litteratursøk,
- utførelse av søk,
- vurdering av søkeresultat,
- utvelgelse av litteratur,
- tolking og vurdering av utvalgt litteratur,
- sammenfatting av resultater
- selve skriving og bearbeiding av oppgaven.

Det som utvilsomt har tatt lengst i arbeidet med oppgaven var fasen hvor de ulike litteratursøk ble planlagt og gjennomført. Denne delen viste seg å være mer utfordrende enn antatt og flere søk ble gjort, og mye av artiklene i disse tidlige søkene ble gjennomgått, før søkene på et senere ble vurdert til ikke å være gode nok av ulike årsaker. Både bibliotekar og veiledere hjalp til med å utforme nye søk. Mye tid har også gått med til å lese, vurdere, tolke og sammenlikne resultater i de ulike inkluderte studier. Tidlig i arbeidet med oppgaven deltok jeg på et EndNote kurs som var vel anvendte timer.