



Ingar Olsen:

Antibiotikateranse og -resistens i biofilm

Biofilm er heterogene strukturer bestående av bakterieceller omgitt av en matriks og er festet til en fast overflate. Bakteriene her er 100 til 1000 ganger mer tolerante overfor antimikrobielle stoffer enn deres planktoniske (flytende) celler. Biofilmer kan være vanskelig å fjerne når de forårsaker kroniske sykdommer som periodontitt, peri-implantitt, cystisk fibrose eller urinveisinfeksjoner.

Fenotypiske egenskaper

Mye er kjent om hvilke fenotypiske (fysiske/biokjemiske) egenskaper ved biofilm som kan redusere effekten av antimikrobielle stoffer, mens lite er kjent om hvilke genetiske mekanismer som er involvert. Det er viktig å være klar over at biofilm er den naturlige tilstanden for de fleste bakterier *in vivo*. Derfor er antibiotikateranse en naturlig tilstand hos biofilm. Også antibiotikaresistens er et naturlig fenomen fordi bakterier har utviklet resistens overfor naturens antibakterielle produkter gjennom milliarder av år før mennesker induserte resistens. Det er ingen enkelt mekanisme som kan forklare antibiotikateranse eller -resistens i biofilm. Sannsynligvis virker en rekke mekanismer sammen (1). Blant mekanismer som påvirker biofilmtoleranse mot antibiotika kan nevnes manglende evne for antimikrobielle stoffer til å trenge igjennom biofilm, langsom veksthastighet hos bakterier i biofilmens indre, endret stoffskifte hos bakterieceller i dypet av biofilm, varierende oksygenmengder i biofilmen og ekstracellulær biofilmmatriks. «Persister cells» er en subpopulasjon av bakterier i biofilm som vokser sakte og sulter og derfor er tolerante overfor antibiotika. «Persisters» kan repopulere infeksjonsetet etter antibiotikabehandling og gi residiv. Enzymer i biofilm slik som beta-laktamaser kan beskytte mot antibiotika. I 60 % av subgingivale seter

hvor beta-laktamaser ble påvist, fantes de i gingivalvæsken i så høye konsentrasjoner at de kunne inaktivere penicilliner (2). I en norsk doktoravhandling ble beta-laktamaser funnet i subgingivalt plakk i opptil hele 72 % av pasienter med «refraktær» periodontitt (3–5).

Ulike bakteriepopulasjoner kan vokse i biofilmens sopp-liknende stilker (mushroom stalks) og i disse stilkenes hoder (caps). Mens cellene i hodene utviklet toleranse overfor colistin og natriumlaurylsulfat, forble cellene i stilkene følsomme (1). Subpopulasjoner i biofilm kan derfor reagere forskjellig på eksponering overfor antimikrobielle stoffer. Eksopolysakkarider i matriks er negativt ladet og kan binde en rekke ladete antibiotika på vei gjennom biofilmen. Beta-laktamantibiotika er relativt uladete og binder seg ikke til eksopolysakkaridene på samme måte. Dersom antibiotika hemmes i sin penetrasjon, vil dette kunne aktivere gener i biofilm som utløser resistens. Redusert biofilmaktivitet hos positivt ladete antibiotika kan også bero på at subinhibitoriske konsentrasjoner av DNA i matriks beskytter bakteriene mot antibiotika. Det utvikles også beskyttende proteiner i matriks under biofilmens vekst. Disse proteinene er knyttet til antibiotikaresistens og virulens.

Det er velkjent at livet i en biofilm kan være stressende på grunn av knapphet på næringsstoffer, overskudd av avfallsprodukter, oksygenmangel og antimikrobielle stoffer. Biofilmresistens kan være et svar på stress. Dette kan få cellene til å gjennomgå mutasjon som disponerer for utvikling av resistens. Enkelte bakterier i biofilmen er bevegelige med evne til å sverme. Svermere er vist å kunne utvikle resistens overfor triklosan (6). Likeledes kan subinhibitoriske konsentrasjoner av biofilm indusere bakterier til mutasjon som igjen kan føre til resistens overfor antibio-

tika. Mange bakterier bruker såkalt «quorum sensing» til å koordinere sin genekspressjon i relasjon til deres lokale tetthet. «Quorum sensing» er vist å være involvert i resistensutvikling overfor tobramycin, kanamycin og hydrogenperoksid. I biofilm hvor bakteriene ligger tett, kan DNA overføres mellom cellene ved transformasjon, transduksjon, konjugasjon eller via ytre membranvesikler (7). Dersom det overføres resistensgener, kan biofilmen bli et reservoar for antimikrobiell resistens.

Genetiske mekanismer

Senere tids forskning har identifisert en rekke gener som kan være involvert i utvikling av antibiotikateranse og -resistens i biofilm (1). Mange av disse genene er mye sterkere uttrykt i biofilm enn i planktoniske celler. Det vil føre for langt å gå i detalj om disse genene. Leseren henvises til referanse (1). En rekke gener for antibiotikaresistens kan finnes i biofilm, herunder gener som koder for resistens mot tetrasyklin, erytromycin, aminoglykosider og beta-laktamantibiotika. *ndvB*-genet fremmer antibiotikaresistens bl.a. ved å stimulere matriksglukaner til å holde tilbake antimikrobielle stoffer. Operon PA1874–1877 (består av tre genloci) utgjør et multikomponent effluks- (utpumpings-) kompleks som bidrar til multiresistens, mens Operon PA0756-PA0757 er et to-komponent system som er viktig for biofilmspesifikk antibiotikaresistens. *brlR* genet uttrykkes kun i biofilm og var den første DNA-regulator som ble funnet å være involvert i biofilmtoleranse og -resistens. Flere effluks-pumper er involvert i antibiotikateranse og -resistens, herunder *mexAP-oprM* og *mexCD-oprJ*. Det er sannsynlig at genetiske mekanismer er viktigere for utvikling av antibiotikateranse og -resistens i biofilm enn fenotypiske trekk.

Referanser

1. Olsen I. Biofilm-specific antibiotic tolerance and resistance. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2015; 34: doi: 10.1007/s10096-015-2323-z.
2. Walker CB, Tyler KZ, Low SB, King CJ. Penicillin-degrading enzymes in sites associated with adult periodontitis. *Oral Microbiol Immunol*. 1987; 2: 129–131.
3. Handal T, Olsen I, Walker CB, Caugant DA. Detection and characterization of beta-lactamase genes in subgingival bacteria from patients with refractory periodontitis. *FEMS Microbiol Lett*. 2005; 242: 319–324.
4. Handal T, Olsen I, Walker CB, Caugant DA. Beta-lactamase production and antimicrobial susceptibility of subgingival bacteria from refractory periodontitis. *Oral Microbiol Immunol*. 2004; 19: 303–308.
5. Handal T, Caugant DA, Olsen I. Antibiotic resistance in bacteria isolated from subgingival plaque in a Norwegian population with refractory marginal periodontitis. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003; 47: 1443–1446.
6. Lai S, Tremblay J, Déziel E. Swarming motility: a multicellular behaviour conferring antimicrobial resistance. *Environ Microbiol* 2009; 11: 126–136.
7. Olsen I, Tribble GD, Fiehn N-E, Wang B-Y. Bacterial sex in dental plaque. *J Oral Microbiol*. 2013, 5: 20736 – <http://dx.doi.org/10.3402/jom.v5i0.20736>.

*Adresse: Ingar Olsen, Institutt for oral biologi, Det odontologiske fakultet, Universitetet i Oslo, PB 1052 Blindern, 0316 Oslo.
E-post: ingar.olsen@odont.uio.no*