

Sammanfattning på svenska av Martin Sundqvists avhandling: “Antibiotic Resistance and Population Dynamics of *Escherichia coli* in Relation to a Large Scale Antibiotic Consumption Intervention”

Andelen infektioner som orsakas av antibiotikaresistenta bakterier ökar över hela världen. För att det ska vara medicinskt försvarbart att genomföra transplantationer, protesingrepp mm så krävs möjlighet till effektiv antibiotikabehandling. Den långsamma utvecklingen av nya antibiotika innebär därför att vi måste hitta nya strategier för att hushålla med de antibiotika vi har idag.

Resistens hos bakterier utvecklas genom mutationer och/eller inkorporering av genetiskt material från andra bakterier via plasmider eller direkt från omgivningen. Vissa resistensmekanismer har visats vara en belastning för bakterien i avsaknad av antibiotika. Det vanligaste är att denna biologiska kostnad ses som en minskad tillväxthastighet hos den resistenta bakterien men kan också uttryckas genom minskad förmåga till kolonisation eller minskad möjlighet till spridning mellan individer. Om den resistenta bakterien exponeras för antibiotika så får den ökad chans till överlevnad genom minskad konkurrens från andra (känsliga) bakterier och genom att kompensera den initiala kostnaden genom ytterligare mutationer. Denna relation mellan antibiotika och kostnad har lett fram till matematiska modeller och ett fåtal kliniska studier som visat att man kan vända antibiotikaresistensutvecklingen hos bakterier genom minskad antibiotikaanvändning.

Plasmider som bär antibiotikaresistensgener innehåller oftast integroner som reglerar integrering och uttryck av de genkassetter som kodar för resistens mot t.ex trimetoprim. Trimetoprim är ett antibiotikum som hämmar tillväxten hos bakterierna genom att inverka negativt på folsyrasyntesen. Trimetoprim är ett effektivt antibiotika och används i Sverige nästan uteslutande i behandlingen av urinvägsinfektioner (UVI).

Okomplicerad UVI orsakas i närmare 90% av fallen av *Escherichia coli* som normalt finns i tarmfloran hos djur och människor. *Escherichia coli* kan delas in i phylogenetiska grupper där vissa har egenskaper som gör att de har högre sannolikhet att kolonisera tarmen under lång tid och även orsaka urinvägsinfektion (UVI). Den *E. coli* stam som man finner i urinen vid UVI dominerar oftast tarmfloran vid samma tillfälle. Trimetoprimresistens orsakas av minst 30 olika *dfp*-gener som kodar för ett modifierat enzym vilket förhindrar trimetoprims verkan. En stadigt ökande resistens hos *E. coli* har noterats under de senaste åren och resistens mot trimetoprim förekommer i 15-65% av *E. coli* stammarna beroende på var i världen man befinner sig.

Syftet med den aktuella avhandlingen var att testa hypotesen att en drastiskt förändrad antibiotikaanvändning i samhället skulle påverka relaterad resistens. Vidare undersöktes effekten av denna intervention på fördelningen av *dfp*-gener och populationsstrukturen hos *E. coli*.

Antibiotikaresistensutvecklingen följs vanligen genom studier på bakterier framodlade från patientprover. Dessa data innehåller olika nivåer av upprepade bakteriefynd från samma patient vilket gör att jämförelser mellan olika studier blir osäkra. I den första studien undersöktes betydelsen av olika tidsgränser för uteslutning av dessa upprepade isolat i de data som sedan används som baslinje för interventionen i II. Hos *E. coli* och *Staphylococcus aureus* gav de olika tidsgränserna små men konsekventa effekter på resistensnivåerna, vilket gav ökad förståelse för risken att återinfekteras med resistenta bakterier. Slutsatsen var att den algoritm som används för uteslutning av upprepade isolat ska anpassas till den mätperiod man har och alltid anges i samband med publicering av antibiotikaresistensövervakning.

I studie två beskrivs effekten på trimetoprimresistens av en drastiskt minskad användning av trimetoprim och trim-sulfa. Alla läkare i Kronobergs län uppmanades att inte använda trimetoprim och trim-sulfa från oktober 2004 till september 2006. Användningen minskade omedelbart med 85% och

ersattes av nitrofurantoin, mecillinam och till viss del av ciprofloxacin. En matematisk modell utvecklades för att analysera interventionseffekten. Trimetoprimresistens hos *E. coli* minskade inte men modellens bästa passning mot observerade data visade en utplanad resistensutveckling uttryckt i modellen som en liten biologisk kostnad för trimetoprimresistens hos *E. coli*. Denna kostnad kunde inte verifieras i tillväxtförsök *in vitro*. Fördelningen av fenotyper hos 4275 *E. coli* påverkades inte av interventionen och inte heller andelen av de trimetoprimresistenta *E. coli* som var resistenta enbart mot trimetoprim. Den begränsade effekten av interventionen bedömdes bero på en liten eller icke existerande kostnad av trimetoprimresistens samt co-selektion genom användningen av andra antibiotika som trimetoprimresistenta *E. coli* också var resistenta mot i hög utsträckning.

För att öka förståelsen av den begränsade effekten av interventionen analyserades i studie 3 fördelningen av *dfr*-gener och integroner hos *E. coli* och *Klebsiella pneumoniae*. Fördelningen av dessa gener var stabil i båda arterna genom hela interventionen och de *dfr*-gener som tidigare rapporterats vanliga hos *E. coli* dominerade även det aktuella materialet. Fördelning av integroner och *dfr*-gener i *K. pneumoniae* skiljde sig förvånande nog från den i *E. coli* vilket antyder att utbytet av resistensgener mellan dessa båda arter är begränsat.

Under senare år har man noterat att större delen av antibiotikaresistensutvecklingen verkar ske i en begränsad del av *E. coli* populationen. I den fjärde studien användes Multi Locus Sequence Typing, MLST, för att studera detta fenomen hos sammantaget 548 *E. coli* (200 trimetoprimresistenta och 348 trimetoprimkänsliga) i relation till interventionsstudien. De trimetoprimresistenta isolaten hade tidigare analyserats i studie 3 och var därför välkaraktiserade avseende *dfr*-gener och integroner. Fördelning av sekvenstyper var stabil i relation till interventionen. Trimetoprimresistens var spridd i en stor del av *E. coli* populationen vilket tidigare har antagits, men sex sekvenstyper visade signifikant högre trimetoprimresistens än bakgrundsivån i materialet. Några av dessa var dessutom kopplade till resistens mot andra antibiotika. Detta antyder att mekanismer relaterade till bakteriernas genetiska bakgrund har betydelse för integrering och stabilisering av antibiotikaresistens hos *E. coli*. Tre *dfr*-gener var starkt associerade med vissa sekvenstyper vilket inte kunde förklaras av mindre epidemier utan sannolikt beror på ytterligare detaljerad styrning av vilka genetiska element som kan inkorporeras och samexistera i *E. coli*.

Sammanfattningsvis visar avhandlingen att det är osannolikt att man kan vända antibiotikaresistensutvecklingen genom minskad användning av en antibiotikaklass på samhällsnivå. Olika delar av *E. coli* populationen verkar ha olika förutsättningar att ta upp och stabilisera antibiotikaresistens vilket kommer att få konsekvenser för framtida strategier för behandlingen av antibiotikaresistenta bakterier.

Ännu större vikt måste läggas vid att försöka minska utvecklingstakten av antibiotikaresistens. Detta kan åstadkommas med en kombination av rationell antibiotikaanvändning, aktivitet för att öka förståelsen för betydelsen av basal vårdhygien och en ökad aktivitet hos mikrobiologiska laboratorier för att ta fram snabba metoder för resistensbestämning. Infektionsläkare och kliniska mikrobiologer måste ta initiativet och fortlöpande blanda sig i enskilda antibiotikaval, inte bara de mest komplicerade. Det finns idag mycket evidens som betonar den begränsade nyttan av antibiotika vid okomplicerade infektioner och att korta behandlingstider kan användas. Våra kollegor behöver stöd för att använda denna kunskap.

All onödig användning av antibiotika såväl inom jordbruk, olika industriella processer och i human medicin måste upphöra för att kommande generationers infektioner effektivt ska kunna behandlas.