



Multiresistente bakterier

– en trussel mod mennesket

Af molekylær biomedicin-studerende Lise Barlebo Ahlborn, videnskabsformidler Helle Blæsild og lektor Birthe B. Kragelund, Biologisk Institut. Tak til biokemi-studerende Casper de Lichtenberg.

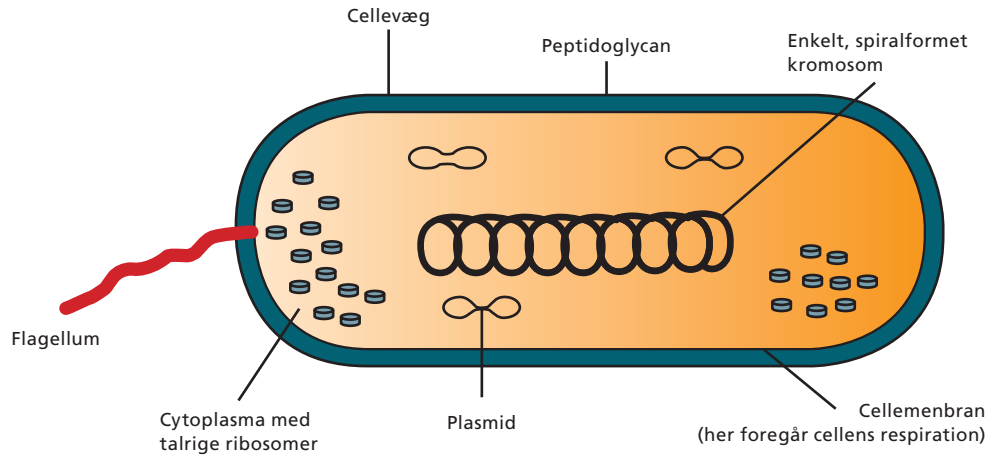
I 2010 døde den første patient efter en infektion med en multiresistent bakterie, og dermed blev det klart, at vi nu står over for en af de allerstørste trusler mod vores overlevelse. Vi kan nu ikke længere kontrollere udviklingen af resistens hos bakterier, og deres modstandsdygtighed mod stadigt flere typer antibiotika er et accelererende problem. Infektioner bliver stadigt sværere at bekæmpe, og hvis udviklingen af resistens får lov at fortsætte, vil mennesker igen kunne dø af lungebetændelse og tilsvarende sygdomme, der i dag betragtes som relativt banale. Dette kapitel handler om bakterier, vores ældste slægtninge, og om bakteriers udseende og betydning for mennesker. Udviklingen af bakteriers resistens bliver særligt belyst, og det forklares, hvordan bakterier kan "smitte" hinanden med resistens. Den sidste del af kapitlet vil handle om enzymet NDM1, der gør bestemte sygdomsfremkaldende bakterier multiresistente, og dermed til en potentiel fare for vores fremtid.

DET EVOLUTIONÆRE STAMTRÆ

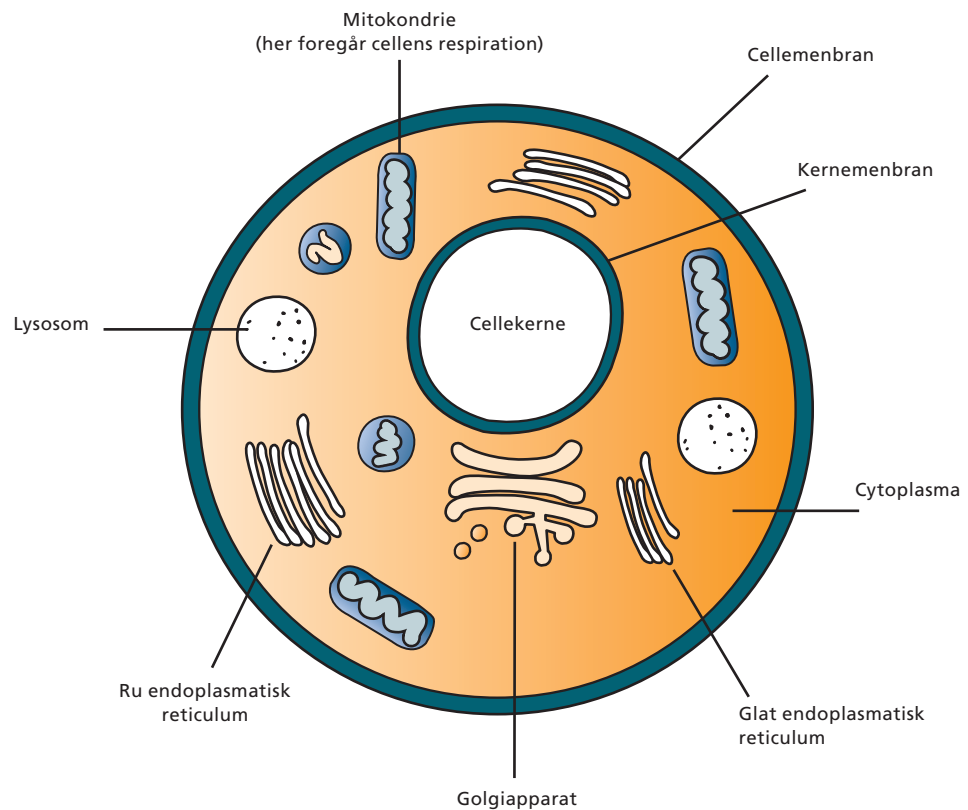
Alle væsener på jorden er slægtninge og grene på samme stamtræ. I mange århundreder har forskere forsøgt at finde ud af, hvordan stamtræet er skruet sammen, og hvordan det forgrener sig. Ved sammenligning af arvemateriale har man fundet ud af, at træet deler sig i tre hovedgrene: bakterier, archaea og eukaryoter. Gruppen eukaryoter dækker over alle andre levende væsener end bakterier som f.eks. mennesker, dyr, planter og svampe. Ordet eukaryot betyder *med* (eu) *kerne* (karyon). Dette henviser til, at alle organismer i denne gruppe har deres DNA pakket i en kerne inde i cellen. Både archaea og bakterier tilhører gruppen prokaryoter. *Pro* betyder før, og *karyon* betyder kerne. Prokaryoter har altså ikke deres DNA liggende i en kerne inde i cellen. Figur 1 er en sammenligning af en prokaryot og en eukaryot celle.



PROKARYOTE



EUKARYOTE



Figur 1

FUNDAMENTET FOR LIVET

Bakterier er vores ældste slægtninge, og uden dem havde vi næppe eksisteret, da det var en bestemt gruppe af bakterier, der var hovedansvarlige for at danne ilt på jorden. Denne gruppe kaldes cyanobakterier (eller blågrønne bakterier). Cyanobakterierne var de første organismer, der udførte foto-

syntese og produktion af ilt (O_2). Dermed var vejen banet for udvikling af pro- og eukaryote organismer, der kunne ånde ved brug af ilt.

Boks 1: Fakta om bakterier

- Der findes ca. 5×10^{30} bakterier på Jorden
- De har levet på jorden i ca. 3,8 milliarder år
- Der findes ca. 10 millioner bakterier i 1 gram jord
- Bakterier er så små, at der i punktummet ved enden af denne sætning er plads til omkring 10.000 bakterier.
- Der findes flere bakterier i 7 liter havvand, end der findes mennesker på Jorden
- Der findes minimum 1,5 milliarder bakterier i en skefuld yoghurt
- Der findes ca. 10^{14} bakterier i menneskets tarm
(til sammenligning kan det nævnes, at der findes ca. 10^{13} celler i hele menneskekroppen)
- Der findes omkring 600 forskellige bakterier i vores mund
- Der findes ca. 150 forskellige bakterier på vores hænder
- En bakterie kan bevæge sig ca. 60 gange dens egen kropslængde pr. sekund
(til sammenligning bevæger en gepard sig ca. 25 gange dens kropslængde pr. sekund)
- Ganske få bakterier er farlige, langt de fleste påvirker os absolut ikke, hverken positivt eller negativt.

Figur 1: En markant forskel mellem en- og flercellede organismer (henholdsvis prokaryote og eukaryote) er, at eukaryote til forskel fra prokaryote har en veldefineret cellekerne. Bakterier er prokaryote organismer.

BAKTERIENS KOMPLEKSE CELLEVÆG

Bakterier er den mindste form for liv, der findes. En bakterie er mellem 1 og 10 mikrometer (0,000001 meter), og er én-cellede organismer, til forskel fra eksempelvis mennesker, der består af ca. 10^{13} celler. Bakterier er imidlertid ganske kompliceret opbygget. De er afgrænset fra omverdenen via

en cellevæg og en underlig- gende cytoplasma-membran. Strukturen af en bakteries cellevæg kan benyttes til en overordnet inddeling af bakterier i to hovedgrupper baseret på en farveteknik, der kaldes Gram-farvning (se boks 2).

Boks 2: Gramfarvning

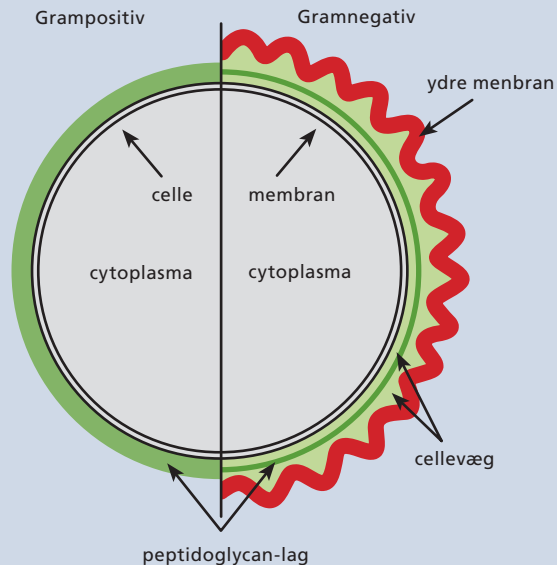
Metoden: Man starter med at farve alle bakterieceller i en prøve med farvestoffet krystalviolet. Krystalviolet binder sig til cellevæggen. Der tilsættes efterfølgende iod for at gøre bindingen mellem krystalviolet og cellevæggen endnu stærkere.

Herefter vaskes cellerne med ethanol. Dette opløser lipidkomponenten i cellevæggen. De gramnegative bakterier har en meget højere koncentration af lipid end de grampositive. Dette gør, at ethanolen vil ødelægge cellevæggen af de gramnegative bakterier, da lipiderne ikke længere er der til at klistre. Dette medfører, at farven slipper ud af cellevæggen. Efter dette trin efterfarves cellerne med et andet farvestof (kontrast-farvestof).

Nu er cellerne farvet, og hvis man placerer bakterierne under et lysmikroskop, vil man kunne adskille grampositive fra gramnegative celler. De grampositive vil være lilla, fordi de har bundet krystalviolet. De gramnegative vil være røde, fordi disse har bundet kontrast-farvestoffet, som f.eks. kunne være neutralrødt.

Gramfarvningen er en hurtig og nem metode til at bestemme, hvilken gruppe af bakterier man har med at gøre. Dette kan være med til hurtigt at afgøre, hvilket medicinsk præparat man skal behandle med, hvis der er tale om patogene bakterier (sygdomsfremkaldende bakterier).

Figur 2. Gramfarvningen blev opdaget af den danske læge Hans Christian Gram i 1884, og farvningen er fortsat den mest brugte farvemethode for bakterier. Når man laver en gramfarvning, gør man det muligt at gennemføre en overordnet inddeling af bakterier i to hovedgrupper – de grampositive og de gramnegative. Det er en del af bakteriens cellevæg, kaldet peptidoglycanlaget, der farves ved denne teknik. De grampositive bakterier har et meget tykt peptidoglycanlag, hvorimod de gramnegative bakterier har et meget tyndt lag. De gramnegative bakterier har et yderligere lag omkring peptidoglycanlaget. Dette kaldes den ydre membran og består af lipopolysakkarid. Dette lag er karakteristisk for de gramnegative bakterieceller. Cellevæggen gør bakterien stærk, så den ikke sprænges af det høje osmotiske tryk i cellen.



De gramnegative bakterier har derimod et meget tyndere peptidoglycanlag, der ligger i et rum, fyldt med væske. Dette rum kaldes periplasma. Gramnegative bakterier har en ydre membran. Det har grampositive ikke.

Denne ydre membran er dannet af et lag af *lipopolysakkarid* samt flere forskellige proteiner. Lipopolysakkaridlaget består af en dobbelt lipidmembran (fedtstofmembran) med sukkerkæder på. Den ydre membran har flere funktioner for bakterien, den vigtigste er at give cellen struktur. En anden funktion er at hjælpe bakterien med at sætte sig fast på overflader. Et godt eksempel på dette er, når der dannes plak på vores tænder. Plak består blandt andet af bakterier, der normalt findes i vores mund. Bakteriernes lipopolysakkarid-lag gør, at bakterierne kan klistre til tænderne og til hinanden og danne et lag uden på tænderne. Plak danner i første omgang en barriere mod patogene bakterier, men hvis plakken ikke fjernes, kan det ødelægge tænderne.

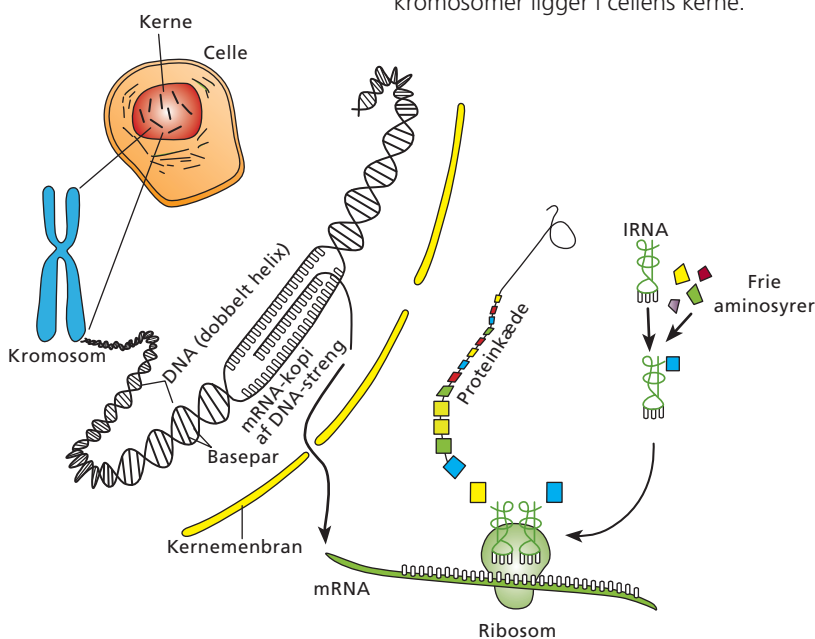
Den ydre membran har faktisk også en giftig virkning på os mennesker, hvis der altså er tale om patogene gramnegative bakterier. Når vi bliver syge af en salmonellabakterie, vil et bestemt lipid i dens ydermembran virke som et giftstof (endotoxin). Dette er grunden til, at man får diarré, når man er smittet med en salmonellabakterie.

UNDER CELLEVÆGGEN

Under cellevæggen befinder cytoplasmamembranen sig. Denne er opbygget af fosfolipider og proteiner. Fosfolipider er særlige fedtstoffer, der består af alkoholen glycerol, som er kovalent bundet til to fedtsyrer og en fosfatgruppe. De fede syrer danner en hydrofob (vandafvisende) hale, mens glycerol, fosfat og den ekstra alkohol danner et hydrofilt (vand-"elskende") hoved. På grund af denne opbygning kan membranen fungere som en mur, så der ikke sker ukontrolleret transport af stoffer ind og ud af cellen.

Cytoplasmamembranen indkapsler dermed bakteriecellens cytoplasma. Cytoplasma er den væske, hvori cellens apparater (ribosomer, DNA, plasmider) opbevares.

Da bakterier er prokaryote organismer, ligger bakteriens DNA frit i cellens cytoplasma. DNA-et er foldet op i ét cirkulært kromosom, der kaldes nukleoid. Dette ene kromosom indeholder gener (DNA), der koder for proteinerne, som er nødvendige for cellens overlevelse. I figur 3 vises det centrale dogme for strømmen af genetiske koder, dog demonstreret i den mere komplekse eukaryotiske celle, hvor flere kromosomer ligger i cellens kerne.



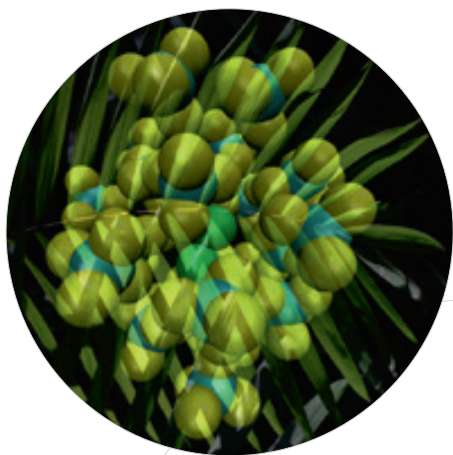
Figur 3. Det centrale dogme: DNA → RNA → Protein. Det centrale dogme beskriver strømmen af genetisk information mellem de biologiske stoffer i cellen: DNA koder for RNA, der koder for proteinsekvensen, der igen koder for proteinets endelige struktur.

Cellens DNA udgør den samlede arvemasse. Informationen i de enkelte gener oversættes til protein ved først at blive omkodet (transskriberet) til et RNA-molekyle. Den særlige type RNA, som DNA transskriberes til, kaldes "budbringer RNA (eng. *Messenger RNA* – *mRNA*). mRNA oversættes (translateres, efter det engelske ord translation) derefter til protein. Her transporteres enkelte aminosyrer til ribosomet ved hjælp af transport RNA (tRNA), hvor de sammensættes i en peptidkæde.

Proteinerne har meget forskellige egenskaber og styrer langt de fleste af de biologiske processer, der foregår i cellen. Sidst kan rækkefølgen af proteinets byggesten, aminosyrer, oversættes til en tre-dimensionel struktur. Denne struktur er unik for det enkelte protein og afhænger altså af, hvilken rækkefølge aminosyreresterne sidder i.

Det er vanskeligt at opbygge alle de nødvendige proteinstrukturer, når bakterien kun har ét enkelt kromosom (mennesket har til sammenligning 46 kromosomer). For at løse dette 'problem' har nogle bakterier plasmider, der er en slags mini-kromosomer i cellens cytoplasma. Plasmider består af et ringformet stykke DNA, som ligger sammenkrøllet som et garnnøgle. Denne struktur kaldes *super-coiled DNA*. De gener, plasmiderne indeholder, er som regel ikke livsvigtige for bakterien. De fungerer som en slags hjælpe-gener, f.eks. når bakterien skal tilpasse sig nye omgivelser. En vigtig egenskab, der ofte er kodet i plasmider, er de enzymer (proteiner), der giver nogle bakterier deres antibiotikaresistens.

Udover bakteriens kromosom og plasmid(er) findes også ribosomer i cellens cytoplasma. Ribosomer er små strukturer, der består af RNA og protein (se figur 3), som varetager dannelsen af proteiner i bakterien.



Bakterier kan have forskellige karakteristika, afhængig af hvor de lever, og hvad deres funktion er. Nogle bakterier har f.eks. en hale-lignende struktur, der kaldes en flagel. Denne kan bakterien snurre rundt, hvis den skal bevæge sig. Andre bakterier har pili på deres overflade. Pili er små hårlignende strukturer, der er opbygget af protein. En bestemt type pili (sex pilus) bruges til at danne den kontakt, der er nødvendig mellem to bakterier, når DNA skal overføres fra den ene celle til den anden.

BAKTERIER OG MENNESKER

Når vi bliver syge, skyder vi ofte skylden på bakterier. Nogle sygdomme forårsages da også af bakterier, f.eks. halsbetændelse, lungebetændelse og madforgiftning. Bakterier, der gør os syge, kaldes *patogene bakterier*. Disse bakteriers effekt skyldes produktionen af bestemte giftstoffer (toxiner) eller enzymer. Når disse toxiner eller enzymer udskilles fra bakterien, kan de ødelægge vores egne celler. Dette kan blandt andet ske ved, at toxinerne nedbryder vores cellers cytoplasmamembran, så de eukaryote celler går til grunde. Toxinerne kan også stoppe vores proteinsyntese og dermed cellens liv. Endelig kan den ydre membran hos nogle patogene gramnegative bakterier i sig selv virke som et giftstof (se boks 2).

Der findes imidlertid også 'gode' bakterier, som har livsvigtige funktioner i kroppen. De kaldes probiotiske bakterier, og uden disse ville vi ikke kunne overleve ret længe (se boks 3).

Boks 3: Probiotiske bakterier

Probiotika betyder 'for livet'. Probiotiske bakterier er fællesbetegnelsen for de nyttige, sundhedsfremmende eller ligefrem livsvigtige bakterier, der findes både i vores krop og i naturen. Typiske probiotiske bakterier lever i vores mund, mave og tarm samt på vores hud, og har generelt den funktion at beskytte os mod andre sygdomsfremkaldende bakterier.

Særlige probiotiske bakterier i tarmen producerer vitaminerne B₁₂ og K. Disse er essentielle (livsnødvendige) vitaminer, som mennesket ikke selv kan danne. Vitamin B₁₂ er vigtig for den normale funktion af vores hjerne og immunsystem samt i dannelsen af blod. K vitamin er vigtig i blodkoagulationsprocessen, der sørger for, at blodet størkner, når vi får et sår. K vitamin er også vigtig, når vi skal have dannet knoglemasse.

Inden for de seneste 10 år har man fundet ud af, at vores tarmflora (samling af bakterier i tarmen) har en enorm stor betydning for vores helbred. Tarmflora er et samlet udtryk for de mikroorganismer, der lever i vores mave-tarmkanal. Nyere forskning peger i retning af, at bl.a. udviklingen af bestemte typer af kræft samt tendensen til at blive overvægtig, påvirkes af tarmfloraen. Man har derfor de seneste år testet effekten af at give probiotiske bakterier som kosttilskud i forebyggelse af sygdomme. (Læs mere i kapitlet: "Fedme og diabetes").

RESISTENS OG ANTIBIOTIKA

Når vi omtaler bakteriers resistens, er det ofte underforstået, at vi mener resistens mod antibiotika. Det kan derfor være nyttigt at vide noget om antibiotika, inden man kan forstå, hvorfor og hvordan bakterier kan udvikle resistens, og hvordan det måske kan forhindres. Et antibiotikum er et molekyle, der kan hæmme eller dræbe en bakterie, og antibiotika produceres naturligt af bakterier og svampe, oprindeligt som angrebsvåben eller som beskyttelse mod angreb. Bakterier bruger altså antibiotika som kampstoffer til at bekriige hinanden. Dette kan være tilfældet, hvis to bakterier kæmper om et område, der er rigt på næringsstoffer. De to bakterier vil udsætte hinanden for antibiotika, indtil den ene går til grunde eller fordrives fra området.

Ordet antibiotika dækker ikke kun over de kemiske stoffer, som bakterierne selv danner, men også over kemisk laboratoriefremstillede stoffer. I laboratoriet har man taget udgangspunkt i den kemiske struktur af de naturlige antibiotika og derpå udviklet stoffer, der ligner de naturlige antibiotika. Sådanne stoffer kaldes syntetiske antibiotika. Disse vil oftest have den samme effekt som de naturlige antibiotika, og vil altså kunne dræbe eller hæmme f.eks. patogene bakterier, hvis vi er blevet syge. Når man bruger antibiotika i sygdomsbekæmpelse, udnytter man, at pro- og eukaryote celler er forskellige. Antibiotika rammer kun bakterien, fordi stoffet rammer molekyler, strukturer eller processer, der kun findes i prokaryote celler. På denne måde bekæmpes en bakterieinfektion i et menneske uden at skade vore egne eukaryote celler.

Der findes flere måder, hvorpå antibiotika kan ødelægge bakteriecellen. Herunder er beskrevet de tre mest almindelige virkningsmetoder:

1. Antibiotika kan hæmme dannelsen af bakteriecellevæggen. Mange antibiotika gør dette ved at hæmme enzymet transpeptidase, som danner bindinger mellem de enkelte lag i peptidoglykanlaget. Den mest kendte gruppe af antibiotika er penicilliner, der netop binder sig til og hæmmer transpeptidasen. Herved sprænges cellevæggen, når bakterien deler sig.
2. Antibiotika kan hæmme proteinsyntesen eller mere præcist ribosomerne. For at der kan laves nye proteiner ud fra mRNA skal ribosomerne samles på mRNA'et. Ribosomer består af flere dele, der skal samles, før der kan ske proteinsyntese. Nogle antibiotika hæmmer denne samling af ribosomet og dermed bakteriens fotosyntese.

3. Antibiotika kan ødelægge cytoplasmamembranen. Der findes typer af antibiotika, der kan indsætte sig i membranen som en pore. Stoffet vil altså danne en kanal gennem membranen. Dette vil føre til, at forskellige stoffer nu kan trænge ind og ud af cellen, hvilket vil medføre celledød (apoptose).



Boks 4: Opdagelsen af penicillin

Penicillin blev opdaget i 1928 af den skotske læge Alexander Fleming. Opdagelsen skete ved en ren tilfældighed, da Alexander Fleming en dag fandt en agarskål, som han ellers havde glemt alt om. På agarskålen havde han dyrket bakterien *Staphylococcus aureus*. Udover bakterien, voksede der også forskellige svampearter (bl.a. skimmelsvamp), som var kommet som forurening fra luften. Han opdagede, at rundt om en stor koloni af skimmelsvamp var der ingen *Staphylococcus aureus* kolonier at se. Bakterierne var tilsyneladende døde af noget fra skimmelsvampen. Dette fænomen syntes Alexander Fleming var underligt, så han satte sig for at finde ud af, hvad det var svampen producerede, som bakterierne ikke kunne tåle. Han identificerede stoffet og kaldte det penicillin, efter den type af skimmelsvamp der producerede det, *Penicillium notatum*. Senere fandt andre forskere ud af, at stoffet var effektivt til behandling af infektionssygdomme (bakterielle infektioner) hos mennesker. Især under 2. verdenskrig begyndte man at masseproducere penicillin for at redde menneskeliv. I dag bliver penicillin stadig flittigt brugt til nogle typer af infektionssygdomme. Desværre bliver flere og flere bakterier resistente over for penicillin, hvilket er et alvorligt og hastigt stigende problem.

BETA (β)-LACTAMERNE

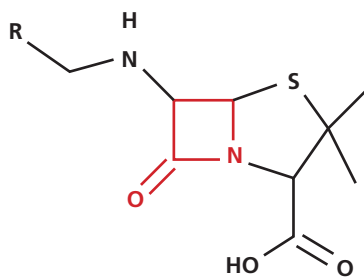
En vigtig klasse af antibiotika er β-lactamerne. Disse dækker over mange forskellige penicilliner, cephalosporiner og carbapenemer. Disse tre typer af β-lactam antibiotika udgør over halvdelen af al antibiotika, der produceres og anvendes i verden.

β-lactamerne virker ved at forhindre dannelsen af bakteriernes cellevæg. Mere præcist er det dannelsen af peptidoglycanlaget, der hæmmes. For at peptidoglycanlaget skal danne en stærk struktur, skal de enkelte lag af sukkerkæder hæftes sammen. To peptidoglycankæder bliver koblet til hinanden via deres aminosyre sidekæder. Hver kæde har små "grene" af aminosyrer siddende på sig (de røde, blå og grønne dele på figur 3). For at koble kæderne af aminosyrerester sammen, kræves enzymet transpeptidase. Enzymet hjælper to peptidoglycankæder med at forbindes. Transpeptidasen binder til en specifik aminosyrerest i den første peptidoglycankæde. En bestemt aminosyrerest i en anden peptidoglycankæde angriber bindingen mellem den første peptidoglycankæde og enzymet. Dette medfører, at enzymet slipper sin binding til hele kæden, og der er nu dannet en binding mellem de to peptidoglycankæder i peptidoglycanlaget.



Enzymet transpeptidase kaldes også for et *penicillin binding protein* (PBP), fordi penicillin og andre β-lactam antibiotika binder sig til enzymet. Når antibiotikummet bindes til enzymet, sker det på akkurat samme måde som når den første peptidoglycankæde binder sig til enzymet. Antibiotikummet optager altså den plads, hvor aminosyreresten skulle være bundet. Den binding, der nu er lavet mellem β-lactam antibiotikummet og transpeptidasen, siger man er irreversibel. Det betyder, at bindingen aldrig vil brydes, og at transpeptidase enzymet inaktiveres, og der opstår ikke krydsbinding mellem to peptidoglycankæder. Peptidoglycanlaget bliver skrøbeligt og vil med tiden sprænges pga. det høje tryk inde i bakteriecellen. Denne proces kaldes lysis. Når bakterien lyserer, vil den dø. På denne måde fører behandling med f.eks. penicillin til bekæmpelse af bakterierne via lysis.

Alle β-lactam antibiotika indeholder en bestemt molekylær struktur, der kaldes en beta (β)-lactam ring (figur 4).



Figur 4. den kemiske struktur for β-lactam strukturen. β-lactam ringen er markeret med rødt.

Denne ringstruktur er meget vigtig for den antibakterielle aktivitet, da det er en del af denne struktur, der binder til transpeptidasen, og dermed inaktiverer denne.

Man kan bekæmpe rigtig mange - både grampositive og gramnegative - bakterier med β -lactam antibiotika, fordi begge grupper har et peptidoglycanlag i deres cellevæg. Men bakterier kan som nævnt udvikle resistens mod disse antibiotika.

Antibiotikaresistens

Ved antibiotikaresistens tager bakterierne ikke skade af et bestemt antibiotikum, og de færreste

er klar over, at udviklingen af antibiotikaresistens har været et problem lige siden det første antibiotikum kom på gaden i 1943. Produktionen af nye antibiotika og udviklingen af resistens har nemlig altid gået hånd i hånd (tabel 1). Vi har vænnet os til, at så snart vi får en infektion, tager vi noget penicillin eller et andet antibiotikum, og så er vi friske kort tid efter, men det er tvivlsomt, om den rutine kan fortsætte meget længere.

Antibiotikum	Introduceret (år)	Resistens opstået (år)
Penicillin	1943	1945
Chloramphenicol	1949	1950
Carbapenemer	1985	1987

Tabel 1. Kilde: Stephen, C. S. and Koella J.C. Evolution in health and disease, second edition, Oxford Biology

HVORFOR BLIVER BAKTERIER ANTIBIOTIKARESISTENTE?

Gennem de seneste mange år er forbruget af antibiotika eksploderet. Især brugen af bredspektrede antibiotika, altså anti-bakterielle stoffer, der kan hæmme mange forskellige bakterier, er "boomet". Den omfattende anvendelse af bredspektrede antibiotika har forårsaget et stort selektionstryk på bakterierne og fremmet de resistente bakteriers overlevelse på bekostning af de ikke-resistente bakterier, da sidstnævnte naturligvis dræbes af antibiotikumet. Vores adfærd har med andre ord favoriseret overlevelsen af de resistente bakterier.

På det molekylære niveau findes tre overordnede årsager til, at bakterier bliver antibiotikaresistente:

1. **Naturlig resistens** betyder, at bakterien naturligt har nogle værktøjer til at stoppe antibiotika. Dette kunne eksempelvis være et protein, som bakterien producerer, og som har den funktion, at det ødelægger antibiotikumet. Et klassisk eksempel er den penicillinresistente bakterie *Klebsiella*. *Klebsiella* danner et enzym af typen β -lactamase, der klipper antibiotikumet over, så det ikke kan binde til transpeptidaserne.

En helt anden type naturlig resistens finder man hos bakterier uden den traditionelle cellevæg. Mycoplasmaer er en gruppe af bakterier uden cellevæg, som dermed er resistente over for alle antibiotika rettet mod komponenter i bakteriecelles væg.

Mutationer i bakteriens DNA kan føre til resistens. Mutationer, altså ændringer i DNA, der koder for enzymer af typen trans-peptidase og β -lactamase er ofte set i forbindelse med resistens. Nyere forskning tyder på, at der findes gener, der koder for trans-peptidaser, som er muteret i en sådan grad, at enzymerne ikke længere vil binde β -lactamerne. Dette medfører, at dannelsen af bakteriens cellevæg ikke hæmmes, og bakterierne overlever altså et angreb fra antibiotika.

Mutationer i generne for β -lactamaser er nødvendige for, at enzymet vil ødelægge antibiotikumet. Det lader nemlig til, at næsten alle bakterier har gener, der koder for β -lactamase enzymer, men ikke alle bakterier er antibiotikaresistente. Det tyder derfor på, at der skal ske en mutation i genet for β -lactamasen, før enzymet vil klippe antibiotikumet. Man mener, at enzymets oprindelige funktion (altså i en ikke-muteret form) var at beskytte bakterien mod de antibiotika, den selv producerede.

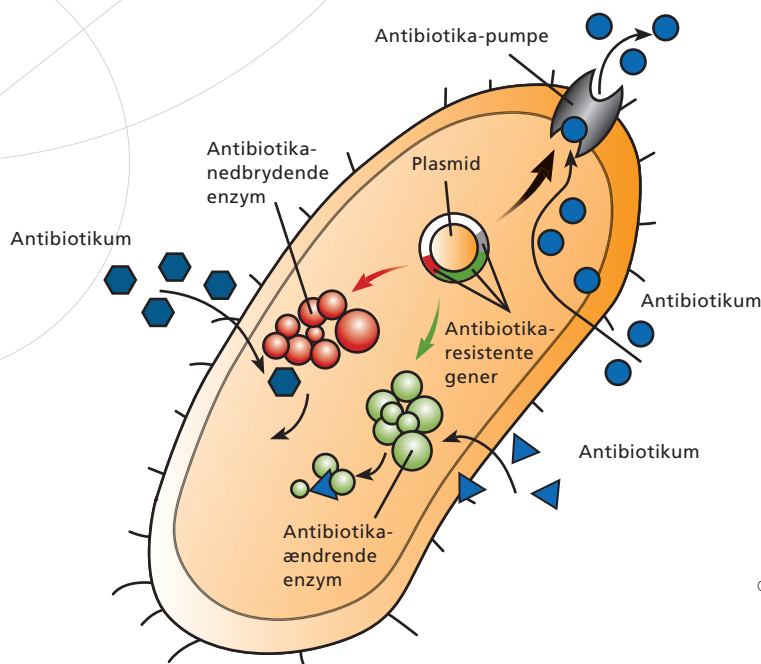
En ændring i disse gener vil gives videre til bakteriens "afkom", da generne enten er placeret i bakteriens kromosom eller på et plasmid. Bakteriens afkom vil igen give ændringen videre til deres afkom, og sådan vil det fortsætte. Der spredes altså resistens til alle efterkommere. Denne type spredning af gener, gennem en "familie", kaldes vertikal genoverførsel.

2. Overførsel af resistensgener fra en bakterie til en anden. Denne type resistens-udvikling er meget "smitsom". Det skal forstås sådan, at bakterier kan overføre deres resistensgener, ikke alene til bakterier af sin egen slags, men også til andre arter af bakterier. Denne type overførsel af gener, fra en resistent bakterie til en anden endnu ikke resistent bakterie, kaldes horisontal genoverførsel.

HORISONTAL GENOVERFØRSEL – HVORDAN KOMMER DNA FRA DEN RESISTENTE CELLE TIL DEN IKKE-RESISTENTE CELLE?

DNA kan kun overføres, når det er enkeltstrenget, hvad enten der er tale om kromosomalt DNA eller plasmid DNA. DNA ligger som en dobbeltstrenget struktur inde i cellen. Denne struktur kaldes en dobbelt helix, og processen bliver lidt nemmere at forstå, hvis man forestiller sig DNA-helixen som en lynlås. Når DNA skal fra den ene celle til den anden lynes lynlåsen op. Den ene del af lynlåsen bliver i cellen, hvor den startede med at være, og den anden del overføres til en nabocelle. Nu befinder der sig en halv lynlås i hver celle - altså én enkelt streng af DNA. Hver af disse enkeltstrengene er skabeloner





Figur 5. Bakterier kan ødelægge antibiotikas funktion på tre måder, via 1) antibiotikapumpe 2) inaktivering 3) ændring af angrebssted

for dannelsen af en ny streng. Enzymer sørger for at gendanne den manglende (komplementære) DNA streng i hver celle. Resultatet bliver derfor, at der findes to lynede lynlåse, en i hver celle. Disse to DNA dobbelthelixer vil være helt ens. På denne måde har den resistente celle fået overført DNA, hvor der er et resistensgen, til den anden celle. Den anden celle er nu blevet resistent over for det samme antibiotikum, som den oprindelige resistente celle.

EN BAKTERIE ER RESISTENT – HVORDAN SÆTTES ANTIBIOTIKUMMET UD AF SPIL?

Overordnet har bakterier tre måder, hvormed de kan ødelægge antibiotikums funktion (figur 5)

1. Nedsætte mængden af antibiotikum, der kan komme ind i bakterien. Dette kan den resistente bakterie gøre ved at ændre sin overflade. Hvis bakterien ændrer sin overflade, så den bliver sværere at komme igennem for antibiotikummet, vil der ikke samles lige så meget af antibiotikummet i bakterien. Bakteriecellen vil derfor ikke

dø af det. Nogle resistente bakterier har sågar udviklet en pumpe, der kan pumpe antibiotika ud af cellen igen.

2. Inaktivere antibiotikummet. Nogle resistente bakterier laver enzymer, der kan klippe antibiotikummet i stykker, så det ikke virker mere. Som vi hørte tidligere, var dette netop tilfældet med bakterien *Klebsiella*, der producerer et enzym af typen β -lactamase. NDM1, der omtales i næste afsnit, er netop sådan et enzym.

3. Ændre antibiotikums angrebssted. Den resistente bakterie har fået ændret det specifikke protein eller den aminosyrerest, som antibiotikummet normalt angriber. Dette gør, at antibiotikummet ikke længere kan genkende det sted, hvor det plejer at angribe og bakterien vil overleve. Dette var netop tilfældet med de muterede transpeptidaser, der ikke kunne binde antibiotikummet.

NDM1 – ET ENZYM DER GØR BAKTERIER MULTIRESISTENTE

Man taler om multiresistens, når bakterier er modstandsdygtige over for flere typer antibiotika. Multiresistente bakterier udgør en betydelig trussel mod vores sundhed.

Der blev i 2009 identificeret et enzym, der gør bakterier multiresistente. Dette enzym kaldes NDM1, der står for **New Delhi Metallo-beta-lactamase 1**. Som navnet antyder, er der altså tale om en β -lactamase variant, der kan inaktivere β -lactam antibiotika.

Boks 5: Enzymnavne og endelsen –ase

Enzymer er navngivet og klassificeret efter de reaktioner, de deltager i (katalyserer). Et eksempel på dette er enzymet urease, der sørger for hydrolysen af urea. Der findes overordnet 6 klasser af enzymer: oxidoreductaser, transferaser, hydrolaser, lyaser, isomeraser og ligaser. Til hver af disse klasser hører flere underklasser, f.eks. er fosfotransferaser en underklasse til transferaserne.

Som det ses af de nævnte enzymnavne har de alle endelsen **–ase** i deres navn. Dette er en generel regel inden for navngivning af enzymer. Der er dog selvfølgelig undtagelser, der ikke følger denne regel, som f.eks. pepsin.



NDM1 er opkaldt efter den by, hvor enzymet første gang blev opdaget. NDM1 dukkede for første gang op hos en svensk patient, der havde været indlagt på et hospital i Indiens hovedstad New Delhi. Den svenske patient havde under sit ophold fået det dårligt og var blevet indlagt. På hospitalet blev det konstateret, at han havde en infektion pga. bakterien *Klebsiella pneumoniae* (en bakterie, der kan give lungebetændelse). Han blev behandlet med traditionelle antibiotika, der dog viste sig uden effekt. Da han kom hjem til Sverige, blev hans tilstand yderligere forværret. Efter indlæggelse på et hospital i Sverige fandt man *Klebsiella pneumoniae* bakterien, der modsat tidligere viste sig at være resistent over for en lang række kendte antibiotika. Man undersøgte bakterien og opdagede, at den

havde genet for NDM1, og at dette enzym var en ny muteret form for β -lactamase. Den uheldige svenske mand havde altså taget en multiresistent bakterie med sig fra Indien til Sverige.

SPREDNING

Siden dette første tilfælde i december 2009 er der i England, USA, Canada, Australien og Holland fundet bakterier, der har NDM1 enzymet. Fælles for alle disse tilfælde er, at patienten for nylig har været gennem sundhedssystemet i lande som Indien eller Pakistan.

Som man måske kan forestille sig, kan NDM1 meget hurtigt sprede sig til hele verden. Bakterien lever af en eller anden grund rigtig godt på indiske hospitaler. Man mener, det kan skyldes en dårlig hospitalshygiejne. Lad os se på et eksempel: En læge har lige tilset en patient, der har en infektion. Patienten har NDM1 positive bakterier (bakterier, der laver NDM1 enzymet), men lægen ved det ikke. Lægen går videre til sin næste patient, der har et brandsår på benet. Lægen renser såret og sætter ny forbindelse på. Manden med brandsåret kan nu være blevet smittet med bakterien, fordi lægen ikke vaskede hænder, efter han havde set på den første patient. I august 2010 døde den første person af en NDM1 positiv bakterie. En belgisk mand på en tur til Pakistan blev involveret i en trafikulykke. Han kom voldsomt til skade med sit ben og måtte derfor behandles på et lokalt hospital. Da han kom tilbage til Belgien, blev han indlagt igen. Han var meget syg af en infektion. På hospitalet prøvede man alle slags antibiotika, men der var intet, der hjalp. Manden døde, fordi han var blevet smittet med en multiresistent, NDM1-positiv bakterie.

VIRKNINGSMEKANISME

NDM1 er som nævnt et enzym, der angriber carbapenem antibiotika, og for at kunne klippe og dermed inaktivere carbapenem antibiotika, må NDM1 have en muteret bindingslomme, der passer perfekt til β -lactam strukturen i carbapenem. Når antibiotikummet klippes over, ødelægges funktionen af antibiotikummet, så det herefter ikke kan binde til f.eks. transpeptidasen og blokere dannelsen af peptidoglycanlaget i cellevæggen. Genet for NDM1 sidder i plasmider, de cirkulære DNA-strukturer, der ligger sammenkrøllet i bakteriecellens cytoplasma.

FRYGTEN

Bakterier, der laver carbapenemaser, kaldes for *superbugs*. De har fået dette navn, fordi de infektioner, som disse *superbugs* forårsager, er svære at behandle. Det skyldes, at carbapenem antibiotika netop er det medicinske våben, der anvendes til meget alvorlige infektioner, hvor der ofte er resistente bakterier involveret. Der er yderligere frygt for at genet for NDM1 overføres til bakterier, der allerede er resistente over for mange andre typer antibiotika. Det vil i sidste ende betyde, at der vil forekomme bakterier hos os mennesker, der er resistente over for alle typer antibiotika, og dermed vil traditionel behandling mod infektioner være virklingsløs. Tidligere banale sygdomme vil fremover være alvorlige og hyppigt medføre dødsfald.

HVAD KAN VI GØRE?

Vi er tvunget til at udvide det våbenarsenal, vi har nu imod multiresistente bakterier, inden vi står magtesløse over for multiresistens. Et af de mest lovende af de nye våben er udviklingen og brugen af små, membranaktive peptider (små proteiner), de såkaldte antimikrobielle peptider (AMP'er). Disse AMP'er findes naturligt i bl.a. mennesker, insekter og planter. Hos mennesker fungerer AMP'er som et forsvar mod patogene bakterier. Eksempelvis findes der mange antimikrobielle peptider i vores mavesæk.

Fordelen ved antimikrobielle peptider er, at bakterier ikke kan blive resistente ved simple mutationer eller via genoverførsel af resistensgener. Mange AMP'er har domæner på deres overflade, som er domineret af positive ladninger. De positive domæner binder sig til den negativt ladede overflade af bakteriernes cellemembran og ødelægger denne. Netop den meget negativt ladede bakteriecellemembran gør angrebet selektivt mod prokaryote celler. Dette skyldes, at bakteriers cellemembraner generelt er mere negativt ladet end cellemembranerne hos dyr og mennesker, og eukaryote celler vil overleve angrebet fra de antimikrobielle peptider. Peptidernes virkningsmekanisme er interessant og endnu ikke helt klarlagt, men bakterierne kan kun opnå resistens ved at ændre sammensætningen af deres cellemembran betydeligt. Dette kræver et stort antal samtidige og koordinerede mutationer. Derfor er bakteriernes muligheder for at udvikle resistens over for AMP'er dårligere end over for traditionelle antibiotika, og udvikling af disse AMP'er kan være et stort skridt mod resistensudvikling.

På trods af den potentielle alvor foregår der i dag kun begrænset udvikling af nye antibiotika. Antibiotika med nye virkemåder er kostbare og langsomme at udvikle og teste, og resistensudvikling er i sammenligning meget hurtigt. Derfor har de fleste private farmaceutiske firmaer valgt ikke at satse inden for området. Der er fra myndighedernes side til gengæld taget markante initiativer mod at reducere spredning af resistens. Herunder kan nævnes et forbud mod brug af antibiotika som vækstfremmer i landbruget, samt øget fokus på hygiejne på eksempelvis de danske hospitaler. Manglende hygiejne er dog en enorm udfordring i mange udviklingslande, hvor adgang til og brug af håndvask ikke nødvendigvis er en del af dagligdagen. Dårlig hygiejne i sundhedssektoren og en ukontrolleret brug af antibiotika har ført til, at lande som Indien og Pakistan er blevet "hot spots" for udviklingen af resistens. Når dette kombineres med menneskers øgede internationale rejseaktivitet opstår en farlig cocktail, hvor multiresistens lynhurtigt kan spredes på tværs af landegrænser. Der er således mange aspekter i kampen mod de multiresistente bakterier. Der skal tages fat hurtigst muligt, og ikke mindst for de næste generationer af bioteknologiske forskere venter en stor opgave i at finde en løsning.



FOTO: CARSTEN BRODER HANSEN