

Antibiotikaresistens här för att stanna?

Kompensatoriska mutationer återställer resistenta bakteriers virulens

Antibiotikaresistenta bakterier blir allt vanligare och har vid vissa typer av infektionssjukdomar blivit ett väsentligt medicinskt problem. Med en minskad antibiotikaanvändning hoppas man att de resistenta bakterier som redan finns i miljön och hos människor kommer att försvinna därför att de växer långsammare och är mindre virulenta än sina känsliga släktingar i frånvaro av antibiotika. Ny forskning visar dock att det i de resistenta bakterierna kan uppstå mutationer som återställer tillväxthastigheten och virulensen utan att resistensen förloaras. Frekvensen av dessa mutationer varierar beroende på kombinationen av antibiotikum och bakterieart men är vanligen relativt hög under laborieförhållanden. Om sådana mutationer är lika vanliga i kliniska situationer kommer de flesta typer av antibiotikaresistens att bli bestående.

Den ökande utbredningen av antibiotikaresistenta bakterier utgör i dag ett väsentligt vårdproblem och ett potentiellt hot mot folkhälsan. Orsakerna till det globalt ökande resistensproblemet är alltför frikostig och felaktig användning av antibiotika, ensidig användning av några få preparatgrupper

Författare

DAN I ANDERSSON

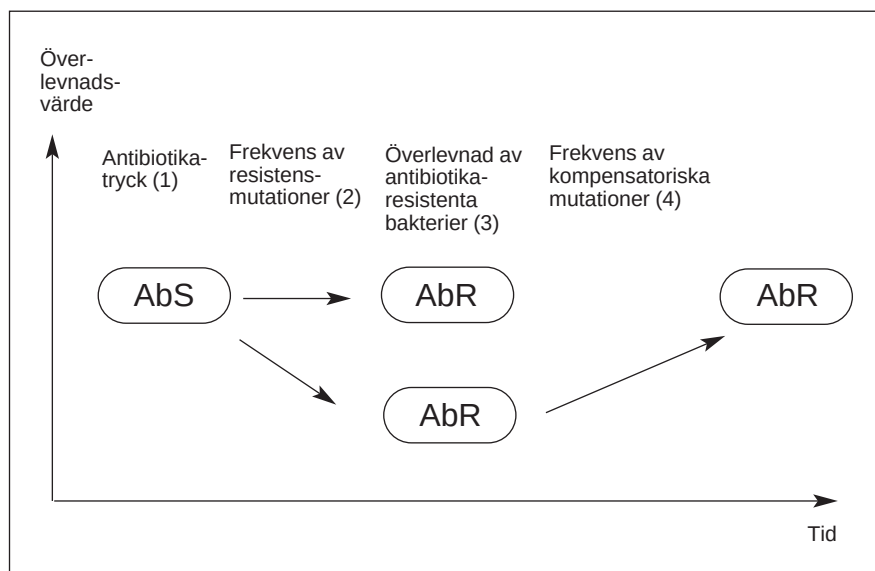
docent i mikrobiologi, Uppsala universitet, chefsmikrobiolog, Smittskyddsinstitutet, Stockholm

JOHANNA BJÖRKMAN

doktorand i mikrobiologi, Uppsala universitet

DIARMAID HUGHES

docent i molekylärbiologi, Uppsala universitet, Uppsala.



Figur 1. Antibiotikaanvändning leder till selektion av resistenta bakterier (AbR). Hur snabbt detta sker beror huvudsakligen på mängden antibiotika som används (1) och frekvensen av resistensmutationer (2). Majoriteten av de resistenta bakterierna har sänkt överlevnadsvärde (3), men de kan förvärva kompensatoriska mutationer (4) som återställer överlevnadsvärdet till samma nivå som hos de ursprungliga, känsliga bakterierna. Som en konsekvens därav kommer populationen resistenta bakterier att stabiliseras med tiden. Hur snabbt hela processen går, beror på den sammanlagda inverkan av ovanstående fyra faktorer.

och brister i sjukhushygien kombinerat med bakteriers anmärkningsvärda förmåga att utveckla resistens. Att vända denna trend kommer att kräva flera olika typer av kompletterande strategier.

En möjlighet är att minska användningen av antibiotika. Förhoppningen är då att de resistenta bakterier som redan finns hos människor, djur och i olika miljöreservoarer kommer att försvinna. Det antas att resistenta bakterier växer långsammare än sina känsliga släktingar i frånvaro av antibiotika och att de därför kommer att utkonkurreras av antibiotikakänsliga varianter. Eftersom antibiotika påverkar för bakterien livsviktiga processer förväntas att tillkomsten av resistens innebär en »kostnad» för bakterien. Detta kan innebära att den essentiella processen blir mindre effektiv när en mål molekyl har förändrats genom mutationer; t ex kan proteinsyntesen bli långsammare om ribosomen förändras. Det innebär även en kostnad för bakterien att bära plasmider och syntetisera enzymer som bryter ned eller modifierar antibiotika till en inaktiv form.

Denna idé tycks ibland ha stöd i praktisk erfarenhet. I andra fall kan dock resistens mot ett antibiotikum stanna kvar hos en bakterie trots att den

na inte längre exponeras för medlet i fråga. Lovande exempel där man har sett en minskning av frekvensen resistenta bakterier efter minskad antibiotikaanvändning är bland penicillinresistenta pneumokocker på Island [1, 2] och erytromycinresistenta grupp A-streptokocker i Finland [3].

Flera faktorer påverkar resistensutvecklingen

Åtminstone fyra faktorer har en direkt inverkan på vilken resistensfrekvens en population av bakterier uppvisar (Figur 1):

1. Mängd antibiotika som används (antibiotiketryck)
2. Frekvens av resistensmutationer
3. Virulens, överlevnad och transmission av bakterien

ANNONS

ANNONS

Tabell I. Effekt av resistensmutationer på virulens hos olika bakteriearter. Mutationer i dessa gener resulterar i resistens. Virulens mäts som tillväxthastighet i möss eller råttor. Kompensatoriska mutationer förekommer oftast i samma gen som resistensmutationerna. ? – har ännu inte bestämts. För detaljer angående S typhimurium, se referens 11.

Bakterieart	Resistens	Gen	Virulens	Kompensatoriska mutationer
Salmonella typhimurium	Streptomycin	<i>rpsL</i>	oftast sänkt	Ja
	Rifampicin	<i>rpoB</i>	oftast sänkt	Ja
	Fluorokinoloner	<i>gyrA,B</i>	oftast sänkt	Ja
	Fusidinsyra	<i>fusA</i>	alltid sänkt	Ja
Staphylococcus aureus	Rifampicin	<i>rpoB</i>	?	Ja
	Fusidinsyra	<i>fusA</i>	oftast sänkt	Ja
	Mupirocin	<i>ileS</i>	oftast oförändrad	Ja
	Fluorokinoloner	<i>gyrA</i>	?	?

4. Frekvens av kompensatoriska mutationer som kan återställa virulensen hos avirulenta resistenta bakterier utan att resistensen går förlorad.

I dag känner vi till 1, en del om 2 men väldigt lite om 3 och 4. För att kunna bedöma resistensutvecklingen och hur vi eventuellt kan påverka den behöver vi ytterligare data, framför allt när det gäller 2–4. Detta gäller speciellt de nya antibiotika som kommer att introduceras under nästa tio- till femtonårsperiod. Denna information kan vi använda för att göra modeller och prognoser om vad som kommer att hända om antibiotikaanvändningen minskas, istället för att som i dag bara hoppas på det bästa.

Svenskt projekt om resistens och bakteriell överlevnad

När det gäller experimentella studier för att direkt mäta vad resistensen kostar bakterien finns det relativt lite data [se t ex 4-9]. Från dessa studier har slutsatsen dragits att antibiotikaresistens generellt är irreversibel och att vi inte kan bli av med redan resistenta bakterier genom en minskad antibiotikaanvändning [10]. Denna slutsats är dock baserad på studier av ett begränsat antal typer av resistenser och bakterier (huvudsakligen studier av icke-patogena *Escherichia coli*), och det kan existera viktiga undantag där resistensen visar sig vara reversibel.

Vi har på Smittskyddsinstitutet och institutionerna för mikrobiologi och molekylärbiologi vid Uppsala universitet startat ett projekt som syftar till att systematiskt bestämma hur antibiotikaresistens påverkar bakteriers virulens och deras förmåga att tillväxa och spridas. Specifikt är vi intresserade av att

- jämföra virulens och konkurrensförmåga hos antibiotikaresistenta bakterier och motsvarande känsliga stammar
- undersöka den långsiktiga stabiliteten hos antibiotikaresistenta bakterier
- undersöka om kompensatoriska mutationer kan återställa virulens och

konkurrensförmåga hos bakterier som på grund av antibiotikaresistens fått nedsatt virulens

- bestämma genom vilka mekanismer kompensatoriska mutationer kan återställa virulensen och konkurrensförmågan
- korrelera laboratoriedata med kliniska data
- att använda ovanstående nya kunskaper för att ta fram mer rationella strategier för antibiotikaanvändning.

Dessa studier har påbörjats i fråga om ett antal bakterier, såsom *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Pseudomonas aeruginosa* och *Streptococcus pneumoniae*. Vi har hittills resultat från studier av olika typer av resistenser hos S typhimurium och Staph aureus, och dessa resultat visar att de flesta typer av resistenser gör bakterien mindre konkurrenskraftig och virulent (Tabell I). Av de olika resistenta S typhimurium- och Staph aureus-mutanter vi studerat uppvisar ca 90 procent en signifikant minskad virulens i olika djurmodeller. Hur mycket virulensen sänks, varierar avsevärt beroende på bakterieart och typ av resistens, men i de flesta fall är den så påverkad att dessa resistenta bakterier skulle konkurreras ut mycket snabbt av den känsliga varianten. Slutsatsen från dessa data skulle därför vara att antibiotikaresistens generellt är reversibel.

Två observationer komplicerar dock denna bild. För det första finns undantag där den resistenta bakterien är lika virulent som den känsliga. Vi har funnit att t ex bland streptomycinresistenta S typhimurium uppvisar de flesta resistenta mutanter sänkt virulens. Vissa typer av streptomycinresistenta mutanter har dock oförändrad eller till och med något högre virulens än de känsliga varianterna och skulle därför kunna konkurrera väl med dessa även i frånvaro av antibiotika [11]. Huruvida resistensen är reversibel eller irreversibel beror därför på hur vanliga dessa »kostnadsfria» mutationer är i kliniska situationer. Ännu har vi inget svar på denna fråga,

och det är därför viktigt att bestämma förekomsten bland kliniskt viktiga bakterier för att bättre kunna förutsäga huruvida resistensen är reversibel eller inte.

Ytterligare en komplikation, som har stor betydelse för hur stabil resistensen är i en bakteriepopulation, är förekomsten av olika typer av kompensatoriska mutationer som snabbt helt eller delvis kan återställa virulensen och överlevnadsförmågan hos bakterien utan att resistensen förloras [11]. Av de sex icke-virulenta, resistenta S typhimurium-mutanter vi undersökt i detalj förekommer kompensatoriska mutationer hos alla.

Eftersom dessa mutationer är så vanliga och eftersom de helt kan återställa överlevnadsförmågan till normalnivå har de stor betydelse för att stabilisera de resistenta bakterierna i en population. Vi har genetiskt identifierat flera av dessa kompensatoriska mutationer. De är oftast lokaliserade i samma gen som den ursprungliga resistensmutationen [11]. Utav 25 kompensatoriska mutationer som vi identifierat är 21 lokaliserade i samma gen som resistensmutationen, och deras effekt är att det muterade proteinet återställs till normal funktion.

Vi har också funnit kompensatoriska mutationer i andra gener än den som ger upphov till resistensen. Till exempel kan icke-virulenta streptomycinresistenta S typhimurium-mutanter, som är resistenta och icke-virulenta på grund av en förändring i det ribosomala proteinet S12, återfå sin virulens genom en förändring i ett annat ribosomalt protein, såsom S4 eller S5, utan att resistensen förloras.

Frekvensen med vilken kompensatoriska mutationer bildas varierar avsevärt beroende på typ av resistens och bakterieart, men i de fall vi studerat är mutationerna så vanliga att de skulle kunna uppstå i de bakteriepopulationer som vanligtvis finns hos t ex en infekterad patient. Till exempel är frekvensen för mutationer som kompenserar den låga virulensen hos streptomycinresistenta S typhimurium ca 10^{-8} /cell, vil-

ket är en ovanligt hög frekvens för denna typ av mutation [11].

Ja i dag kanske nej i morgon

Det är viktigt att experimentellt och kliniskt klarlägga om, när och hur resistenta bakterier försvinner respektive överlever i frånvaro av antibiotika. Sådana resultat kan sedan användas för att mer rationellt diskutera i vilka fall (vilka kombinationer av antibiotika och bakteriearter) en minskad antibiotikaanvändning kan förväntas leda till att de redan resistenta bakterierna försvinner hos människor och i miljöreservoarer. På grund av dels de populationsbiologiskt relativt komplexa samband som bestämmer frekvensen av resistenta bakterier i en population (Figur 1), dels att vi i dag inte har definierat dessa, speciellt inte i kliniska situationer, är det svårt att ge ett entydigt svar på frågan om antibiotikaresistens är irreversibel. Från de resultat vi och andra hittills erhållit i djurmodeller och laboratorieförsök är vårt generella svar: ja, tyvärr. Detta svar kan dock förändras till ett nej om det visar sig att »kostnadsfria» mutationer samt kompensatoriska mutationer är ovanligare i kliniska situationer än vad vi funnit under laboratorieförhållanden och i djurmodeller. Dessutom har vi hittills studerat relativt få bakterier och resistenstyper, och det kan finnas viktiga undantag där »kostnadsfria» och kompensatoriska mutationer är sällsynta och där resistenta bakterier därför skulle kunna utkonkurreras av de känsliga varianterna.

Att identifiera sådana potentiella undantag, där resistensen är reversibel, vore mycket önskvärt.

Referenser

1. Kristinsson KG. Effect of antimicrobial use and other risk factors on antimicrobial resistance in pneumococci. *Microb Drug Resist* 1997; 3: 117-23.
2. Pradier C, Dunais B, Carsenti-Etess H, Dellamonica P. Pneumococcal resistance patterns in Europe. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997; 16: 644-7.
3. Seppälä H, Klaukka T. The effects of changes in the consumption of macrolide antibiotics on erythromycin resistance in group A streptococci in Finland. *N Engl J Med* 1997; 337: 441-6.
4. Spratt BG. Antibiotic resistance: Counting the cost. *Curr Biol* 1996; 6: 1219-21.
5. Bouma JE, Lenski RE. Evolution of a bacteria/plasmid association. *Nature* 1988; 335: 351-2.
6. Lenski RE, Simpson SC, Nguyen TT. Genetic analysis of a plasmid-encoded, host genotype-specific enhancement of bacterial fitness. *J Bacteriol* 1994; 176: 3140-7.
7. Schrag SJ, Perrot V. Reducing antibiotic resistance. *Nature* 1996; 381: 120-1.
8. Schrag SJ, Perrot V, Levin BR. Adaptation to the fitness costs of antibiotic resistance in *Escherichia coli*. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 1997; 264: 1287-91.

9. Sherman DR, Mdluli K, Hickley MJ, Arain TM, Morris SL, Barry CE III et al. Compensatory *ahpC* gene expression in isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Science* 1996; 272: 1641-3.
10. Antibiotic resistance: Road of no return. *Science* 1997; 24: 575-6.
11. Björkman J, Hughes D, Andersson DI. Virulence of antibiotic resistant *Salmonella typhimurium*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 3949-53.

Summary

Antibiotic resistance here to stay? Compensatory mutations restore virulence of resistant bacteria

Dan I Andersson, Johanna Björkman,
Diarmaid Hughes

Läkartidningen 1998; 95: 3940-4

Bacterial antibiotic resistance has increased alarmingly because of overuse of antibiotics both in humans and animals. One way of reversing this development is to reduce the use of antibiotics, thus promoting the disappearance of the resistant bacteria already present in humans and the environment. This approach is based on the assumption that resistance is conferred at the cost of impaired survival fitness in the absence of antibiotics, as compared with sensitive strains. It seems to be generally true that resistant bacteria are less fit than the respective sensitive strains, which suggests that resistance may be reversible. However, a complicating factor is the frequent finding in resistant strains of various types of compensatory mutations that restore fitness without concomitant loss of resistance. Thus, second-site compensatory mutations may allow resistant strains to persist and compete successfully with sensitive strains even in an environment depleted of antibiotics. It is concluded in the article that, if compensatory mutations are as common in clinical settings as they are in the laboratory, many types of resistance will be irreversible.

Correspondence: Associate Professor Dan I Andersson, Swedish Institute for Infectious Disease Control, Dept of Bacteriology, SE-105 21 Stockholm, Sweden.



MEDICINENS SPRÅK

Särtryck ur Läkartidningen 1990-93

Läkartidningens språkspalt innehåller både stort och smått, både dagsländor och "eviga" sanningar – om nu sådana över huvud taget finns i språket och medicinen.

Ett urval mer översiktliga artiklar från fyra år har samlats i detta 32-sidiga särtryck, som togs fram i anslutning till arbetet med "Förslag till skrivregler för medicinska termer".

Pris 48 kr. Vid 11-50 ex 43 kr, vid högre upplagor 40 kr/ex.

Beställ här

..... ex Medicinens språk

.....
Namn

.....
Adress

.....
Postnummer/Postadress

Sändes till Läkartidningen, Box 5603, 114 86 Stockholm

Märk gärna kuvertet "Medicinens språk".

Beställning per fax:
08-20 76 19