



## NYT SYN PÅ ANTIBIOTIKA OG RESISTENS

Den levende bakteriecelle er normalt indesluttet af en cellemembran og udenfor den af en cellevæg, som er en kemisk aflejring af stoffer der udskilles fra cellen, hvorefter de aktivt indbygges i cellevæggen af et enzym. Det er den almindelige medicinske opfattelse at bakterier kun kan leve, når bakterier er omsluttet af denne ydre beskyttende cellevæg.

Omfattende forskning har imidlertid vist, at bakterier blandt stort set alle undersøgte arter kan leve og formere sig uden cellevæg, og at brug af penicillin ( $\beta$ -laktamer) til behandling af bakterieinfektioner systematisk fremprovokerer bakteriers cellevægsfrie livsform, hvor de ændrer udseende og livsform, og opnår en evne til at leve intracellulært – altså inden i vore celler.

Disse cellevægsfrie bakterier omtales både som CWDB (cell wall deficient bacteria) og L-former.

Bakteriers cellevægsfrie og intracellulære livsform ændrer deres evne til at skabe sygdom, således at de når de evt. kommer ud af deres cellevægsfrie form kan forårsage kroniske infektioner – altså infektioner der kommer tilbage igen og igen, eller, når de bliver i deres cellevægsfrie form kan skabe såkaldte autoimmune sygdomme, hvor kroppens immunceller angriber vore egne celler.

De fleste af vore standard metoder til at diagnosticere bakterieinfektion er ubrugelige overfor cellevægsfrie bakterier, og læger har derfor af flere grunde svært ved at erkende og behandle de kroniske sygdomme, som penicillinbehandling medfører – om ikke af anden grund så fordi lægen igen vil forsøge at behandle sygdommen med penicillin.

### Penicillins funktion og virkning

Bakterier der trives deler sig og vokser uafbrudt, og de skal derfor konstant udvide og supplere den udvendige cellevæg med nye byggesten. Disse byggesten indføjedes i bakteriernes cellevæg af et enzym – transpeptidase-enzymet – der indbygger nyt materiale i cellevæggen. Dette enzym blokeres af den type antibiotika der kaldes beta-laktamer ( $\beta$ -laktamer) som f.eks. penicillin og cefalosporin. Blokeringen betyder at selvom bakterien fortsat trives og har det godt, så kan den ikke længere udbygge sin cellevæg, og cellevæggen går derfor i stykker. Når cellevæggen krakelerer suges vand fra omgivelserne ind i bakteriecellen og den sprænges som en overfyldt vandballon. Dette er penicillins veldokumenterede og anerkendte funktionsmåde.

Nogle bakterier er imidlertid rigtig gode til at pumpe vand ud af cellen igen, eller de pumper evt. salte ud af cellen, så der suges mindre vand ind i cellen, og bakterien undgår derved penicillinens dræbende effekt, hvorefter den kan leve videre uden

cellevæg. Det er måske 1 ud af 1000 eller 10.000 bakterier som er i stand til at leve uden cellevæg, men antallet betyder ikke så meget når der er milliarder af bakterier. Dette er bakteriers naturlige resistens mod penicillin, hvilket også er veldokumenteret, men ikke en almindeligt forstået virkning og derfor kun anerkendt af få.

Bakteriers livsform som cellevægs-frie kan være stabil eller ustabil. De ustabile former vender efter kortere eller længere tid tilbage til deres normale bakterieform med cellevæg, f.eks. når penicillinbehandlingen er overstået. Bakterien kan så være årsag til en "ny" infektion. De stabile cellevægsfrie bakterier fortsætter deres liv i den cellevægsfrie form. Det vil sige at når de deler sig, så vil begge bakterier være cellevægsfrie i "al fremtid".

Det er veldokumenteret at mange arter af bakterier skal udsættes for gentagne eller langvarige penicillinbehandlinger før de danner stabile cellevægsfrie livsformer, det gælder f.eks. bakterier inden for slægter som Stafylokokker og Streptokokker. Andre bakterier som f.eks. Borrelia og Rickettsia har en næsten naturlig evne til at gå over i en cellevægsfri form.

Nedenstående liste viser til venstre hvilke typer antibiotika som skaber resistente bakterier ved at omforme dem til cellevægsfrie bakterier. Til højre i tabellen findes de former for antibiotika som ikke skaber cellevægsfrie bakterier, og som generelt set også har evne til at gå ind i vore celler og rydde op for cellevægsfrie bakterier der – evt. efter langvarig kombinationsbehandling.

Antibiotika som er CWDB-inducerende og primært med ekstracellulær virkning	Andre antibiotika med virkning i blod, serum og intracellulært
<b>β-laktamer</b>	<b>Aminoglycosider</b>
Penicillin f.eks.:	• Gentamycin
• Amoxicillin	• Kanamycin
• Ampicillin (pivampicillin)	• Neomycin
• Benzylpenicillin	• Streptomycin
• Dicloxacillin	Chloramphenicol
• Flucloxacillin	Clindamycin
• Kloxacillin	Daptomycin (lipopeptider)
• Phenoxymethylpenicillin	Fusidin
• Mecillinam	Kinoloner
• Piperacillin	Makrolider f.eks.:
Monobactamer	• Azithromycin
Karbapenemer	• Erythromycin
Cefalosporiner	• Roxithromycin
	• Clarithromycin
Ikke β-laktam	Metronidazol
Glycopeptider	Sulfonamider
• Vancomycin	Tetracyklin (Doxycylin, Tigemycin)
	Trimetoprim

CWDB = cell wall deficient bacteria, dvs cellevægsfri bakterier.



### Bakteriers liv som cellevægsfrie

Hos sygdomsfremkaldende bakterier findes væsentlige "infektions-våben" i deres cellevæg, og cellevægsfrie bakterier er derfor ude af stand til at inficere vore celler på deres normale måder.

Derimod, kan de cellevægsfrie bakterier fortsat blive fagocyteret (spist) af hvide blodlegemer eller af makrofager i vort væv. Når vore celler fagocyterer bakterier, bliver bakterien normalt indkapslet i et fagosom, som er en slags kapsel inden i cellen, hvortil cellen udskiller stoffer som f.eks. cathelicidin, enzymer og syrer, for at slå bakterien ihjel og nedbryde den.

Denne proces er de cellevægsfrie bakterier imidlertid i stand til at blokere, således at de bruger fagosomet som en overlevelseskapsel, hvor de kan leve og opformere sig. Mens de lever inden i vore celler har de fortsat deres stofskifte og producerer forskellige gift- og affaldsstoffer, som cellen vil udskille. Dét kan være baggrunden for visse autoimmune sygdomme, hvor vore immunceller opfatter at nogle af vore egne celler "lugter" forkert og derfor går til angreb på dem.

Hvis de er blevet fagocyteret af et hvidt blodlegeme vil de blive fragtet rundt i kroppen og kan slå sig ned i væv et nyt sted i kroppen, hvor de enten kan skabe en kronisk betændelse som stabile cellevægsfrie bakterier eller en akut betændelse hvis de er ustabile cellevægsfrie bakterier.


### Diagnoseproblemet

Vanskeligheder med at påvise at en konkret sygdom skyldes infektion med cellevægs-frie bakterier vil normalt forhindre en korrekt diagnose og derfor også forhindre passende behandling. Og, der er mange grunde til, at det er vanskeligt at påvise cellevægsfrie bakterier i laboratoriet.

For det første vil et skrab fra en slimhinde i halsen eller i urinvejen normalt ikke indeholde cellevægsfrie bakterier, fordi de cellevægsfrie bakterier sidder inde i vore levende celler i slimhinden og ikke på overfladen af slimhinden som mange patogene bakterier ofte vil gøre.

For det andet vil man typisk undersøge en prøve for om der er bakterier til stede ved at tilsætte Gram-farve, som farver Gram negative bakterier røde og Gram positive bakterier blå. Men Gram-farven indfarver bakteriens cellevæg – som de cellevægs frie bakterier jo ikke har. Derfor vil laboranten med stor sikkerhed kunne sige, at der ikke er bakterier i prøven, og lægen vil derfor formodentligt foreslå, at infektionen skyldes en virus.

For det tredje har mange bakterier en karakteristisk form som kan ses i mikroskop. Men, bakteriernes form skyldes normalt opbygningen af deres cellevæg, så uden cellevæg mister bakterierne deres "velkendte" former. Kolonier af cellevægsfrie bakterier har også ændret vækstform, således at man ikke kan "genkende" bakteriernes normale kolonier. Sempel mikroskopi vil altså normalt give falsk negative resultater.



For det fjerde vil man evt. dyrke den prøve man har taget – blot for en sikkerheds-skyld. Men det dyrkningsmedie man anvender vil normalt indeholde serum fra kanin, hest eller okse. I serum er der stoffer der fastholder cellevægsfrie bakterier i deres cellevægsfrie form. Så selv om bakterierne evt. vokser og danner kolonier under dyrkning, så vil laboranten kunne fastslå, at der nok er noget der har groet, men at de ikke har form eller gramfarver som bakterier og at der derfor ikke er bakterier i prøven.

For det femte kan man undersøge for en infektion ved hjælp af ELISA-test, der viser om kroppen har dannet antistoffer mod sygdomsbakterier. Men, vort immunforsvar danner antistoffer mod stoffer på bakteriers overflade – altså deres cellevæg – som de cellevægsfrie bakterier ikke har. Dog kan lægen nogle gange se at "der er et vist lavt niveau" af immunreaktion, og det vil normalt blive forklaret med at kroppen "husker" en tidligere infektion. Hvis der altså er tale om en infektion som skyldes en cellevægsfri bakterie, så vil vi med denne moderne metode komme til den sikre men forkerte konklusion, at der ikke er tale om en bakterieinfektion.

For det sjette kan man undersøge prøver fra en syg patient med en PCR-test – som kan vise om den indeholder genetisk materiale fra bakterier. Da de cellevægsfrie bakterier lever intracellulært i vore celler vil en PCR test normalt give negativt resultat. Den forbehandling man evt. giver en prøve før en PCR-test vil normalt ikke frigøre bakteriernes genetiske materiale og prøven vil derfor være negativ evt. med et svagt spor, som man normalt vil se bort fra som betydningsløs. Hvis infektionen skyldes en cellevægsfri bakterie vil vi altså normalt også med denne topmoderne metode komme til den sikre men forkerte konklusion, at der ikke er tale om en bakterieinfektion.

Men det er muligt at diagnosticere cellevægsfrie bakterier. Med simple ændringer af Gram- farvning vil cellevægsfrie bakterier blive synlige – f.eks. ved at tilsætte glutaraldehyd sammen med Gram-farverne, eller ved at tilsætte en farve som også anvendes almindeligt i mikroskopi Chlorazol Black E. Med små ændringer af standarden ville man let kunne diagnosticere L-former.

Ved at forbedre forbehandlingen af prøver, der skal PCR-testes, kan man slå celler og bakterier i stykker og frigøre de cellevægsfrie bakterier gener, så de kan detekteres med PCR-test.

### **Konklusion**

Mens vi bekæmper udvikling af resistente bakterier ved f.eks. at foretrække behandling med penicillin frem for tetracyclin, har vi samtidig sat kikkerten for det blinde øje for den naturlige resistens som bakterier har overfor penicillin. Herved skaber vi kroniske eller autoimmune sygdomme hos patienterne uden at forstå, at det er vort sundhedsvæsen som skaber dem.

### **Klaus Sall**

Referencer

Domingue, G J. Sr. And Woody, Hannah B. (1977) Bacterial Persistence and Expression of Disease. *Clinical Microbiology Reviews*, 1997, Vol. 10, No. 2, p. 320-344

Potgieter M, Bester J, Kell DB, Pretorius E. (2015). The dormant blood microbiome in chronic, inflammatory diseases. *FEMS Microbiol Rev.* 2015 Jul;39(4):567-91.

Schmitt-Slomska J.; Michailova L.; Ivanova, E. and Toshkov, A.: (1986) Adhesion and phagocytosis of *Staphylococcus aureus* L-forms. *J Basic Microbiol.* 1986;26(7):429-40.

