

- CRB, Currey HLF. Clinical judgment in rheumatoid arthritis. II. Judging »current disease activity» in clinical practice. *Ann Rheum Dis* 1983; 42: 648-51.
7. Kirwan JR, Chaput de Saintonge DM, Joyce CRB, Currey HLF. Clinical judgment in rheumatoid arthritis. III. British rheumatologists' judgments of »change in response to therapy». *Ann Rheum Dis* 1984; 43: 686-94.
8. Kirwan JR, Currey HLF. Clinical judgment in rheumatoid arthritis. IV. Rheumatologists' assessments of disease remain stable over long periods. *Ann Rheum Dis* 1984; 43: 695-7.
9. Elstein AS, Holzman GB, Ravitch MM, Metheny WA, Holmes M, Hoppe R et al. Comparison of physicians' decisions regarding estrogen replacement therapy for menopausal women and decisions derived from a decision analytic model. *Am J Med* 1986; 80: 246-58.
10. Chaput de Saintonge DM, Hathaway NR. Antibiotic use in otitis media: patient simulations as an aid to audit. *BMJ* 1981; 283: 883-4.
11. Fish HU, Hammond KR, Joyce CRB, O'Reilly M. An experimental study of the clinical judgment of general physicians in evaluating and prescribing for depression. *Br J Psychiatry* 1981; 138: 100-9.
12. Brehmer B. The psychology of linear judgement models. *Acta Psychol* 1994; 87: 137-54.
13. Marantz PR, Alderman MH, Tobin JN. Diagnostic heterogeneity in clinical trials for congestive heart failure. *Ann Intern Med* 1988; 109: 55-61.
14. Marantz PR, Tobin JN, Wasserteil-Smoller S, Steingart RM, Wexler JP, Budner N. The relationship between left ventricular function and congestive failure diagnosed by clinical criteria. *Circulation* 1988; 77: 607-12.
15. Remes J, Miettinen H, Reunanen AS, Pyörälä K. Validity of clinical diagnosis of heart failure in primary health care. *Eur Heart J* 1991; 12: 315-21.
16. Dahlström U, Boman K, Edvardsson N, Pehrsson K, Persson S. Hjärtsvikt – en svårställd diagnos. Kan poängsystem identifiera patienterna? *Läkartidningen* 1995; 92: 1360-3.
17. Carlson K, Lee DCS, Goroll AH, Leahy M, Johnson RA. An analysis of physicians' reasons for prescribing long-term digitalis therapy in outpatients. *J Chron Dis* 1985; 38(9): 733-9.
18. Osignerad. Behandling av akut och kronisk hjärtsvikt. Information från Läkemedelsverket 1992; 3: 221-39.

# PULSFÄLTGEL-ELEKTROFORES

## Ny metod att spåra bakteriers smittvägar

**Pulsfältgelelektrofores, PFGE, är en ny metod som möjliggör klonal identifiering av bakteriestammar. Den har visat sig vara ett värdefullt epidemiologiskt verktyg vid kartläggning av meticillinresistenta stafylokockers smittvägar. Dessa bakterier utgör ett stort nosokomialt problem i stora delar av västvärlden. PFGE-metoden, som bygger på restriktionsenzymanalys av bakteriernas kromosomala arvs massa, har prövats med framgång i Umeå.**

Antibiotika med förmåga att motstå bakteriernas nedbrytande enzymer (beta-laktamaser) introducerades vid mitten av 1960-talet. Kort därefter påvisades stafylokocker med resistens mot samtliga antibiotika i betalaktamgruppen, t ex penicilliner och cefalosporiner (s k meticillinresistenta stafylokocker, MRSA). Stafylokocker har i varierande grad även blivit resistenta mot andra, icke-betalaktamantibiotika såsom aminoglykosider, tetracykliner, erytromycin, tienamyciner och kinoloner.

Det första större utbrottet av nosokomiala infektioner orsakade av MRSA rapporterades från Barcelona, Spanien 1989 [1]. Därefter har MRSA spritt sig och förekommer numera endemiskt vid många sjukhus i stora delar av Västeuropa och USA, där de utgör ett betydande nosokomialt problem [2-4].

I Sverige har hitintills de flesta MRSA-stammarna isolerats från patienter eller personal som på något sätt haft kontakt med sjukhus eller sjukvård utomlands, där de smittats av dessa bakterier. Vid några tillfällen har smittörföringen till sjukvårdspersonal och medpatienter kunnat påvisas, vilket krävt betydande och kostsamma sjukhushygieniska insatser för att kunna eliminera fortsatt smittspridning.

### Kartläggning av smittvägen

Eftersom kliniska infektioner med dessa multiresistenta bakterier är svårbehandlade försöker man på olika sätt

att identifiera och isolera asymtomiska smittbärare liksom patienter med kliniska infektioner. För att förebygga ytterligare nosokomial spridning kartläggs spridningsvägar både inom och utom sjukhusen.

För detta ändamål krävs möjligheter att typbestämma olika isolat av MRSA och därigenom säkerställa bakteriernas ursprung och eventuella släktskap med andra isolat. Vid typning av MRSA-bakterier har man hittills fått förlita sig på metoder med låg specificitet och diskriminationsförmåga, t ex biokemisk typning, fagtypning, antibiotikaresistensmönster och serologisk typning.

På senare år har metoder som analyserar bakteriernas DNA-innehåll såsom bestämning av plasmidmönster introducerats i detta syfte. Tyvärr har även den senare metoden visat sig ha låg specificitet för att påvisa bakteriestammar med identiskt genetiskt ursprung, s k klonal specificitet. Avsaknaden av typningsmetoder som med stor säkerhet identifierar en klonal bakteriespridning i populationen har försvårat möjligheterna till säkra epidemiologiska utredningar av spridningsmönster för MRSA.

### Ny lovande metod

En ny metod, pulsfältgelelektrofores (PFGE), har visat sig vara en lovande metod för identifiering av bakteriestammar. Med denna metod kan DNA-fragment upp till 50Mb (50 000 000 baspar) separeras. Äldre gelanalytmetoder av restriktionsenzymbehandlad arvs massa

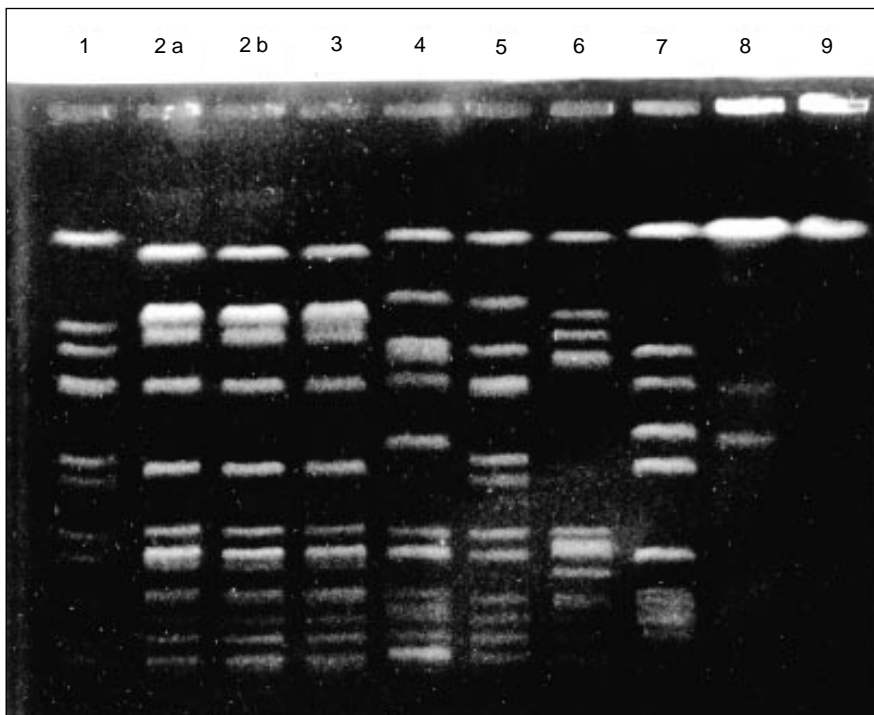
### Författare

TOR MONSEN  
ST-läkare, kliniska bakteriologiska laboratoriet

JOHAN WISTRÖM  
överläkare, infektionskliniken

ROLF LUNDHOLM  
överläkare, sjukhushygieniska avdelningen

STIG HOLM  
professor, kliniska bakteriologiska laboratoriet, samtliga vid Norrlands Universitetssjukhus, Umeå.



**Figur 1.** Kromosomalt DNA från isolerade meticillinresistenta stafylokokker (MRSA) behandlade med restriktionsenzym (Sma 1) och pulsfältgelelektrofores (PFGE). Kommentar: Rad 1 = patient 1. Rad 2 a, 2 b = patient 2. Rad 3 = patient 3. Rad 4 = patient 4. Rad 5 = patient 5. Rad 6 = patient 6. Rad 7 = kontroll, känd MRSA-stam från Strasbourg. Rad 8 = *S aureus*, ej MRSA. Rad 9 = kontroll DNA från *Streptomyces cervisiae*.

har kunnat separera DNA-fragment i storleken endast upp till 50kb (50 000 baspar) [5, 6], vilket medför svårigheter att tillförlitligt kunna särskilja de mönster som erhålls vid gelelektrofores av olika bakteriestammar, då upplösningen på gelen är för låg. PFGE är en möjlig lösning av detta problem och möjliggör klonal identifiering av bakteriestammar [5, 6].

### Restriktionsenzymanalys av bakteriernas arvsmassa

PFGE-metoden bygger på restriktionsenzymanalys av bakteriernas kromosomala arvsmassa (DNA). Arvsmassan behandlas med restriktionsenzymer, vilka sönderdelar DNA i låg frekvens och därigenom lämnar »stora» DNA-fragment.

Efter applicering på gel separeras DNA-fragmenten med hjälp av en kontinuerlig datorstyrd manipulation av det elektriska fältets polaritet [7]. Resultatet blir specifika DNA-mönster som möjliggör differentiering av olika bakteriekloner. Dessa unika mönster kan liknas vid bakteriernas kromosomala »fingeravtryck».

Meticillinresistens är som tidigare nämnts ofta kopplad till resistens mot ett flertal andra antibiotika. Arvsmas-

san som kodar för denna resistens (mec A-genen) kan idag påvisas med DNA-amplifiering, s.k. polymerkedjereaktionsteknik (PCR). Metoden bygger på specifik amplifiering/kopiering av den kromosomalt medierade mec A-genen och visualiseras efter elektroforetisk separation [8, 9].

### Handläggningsdirektiv från Smittskyddsinstitutet

Direktiv för handläggning av patienter med MRSA-bärarskap har utgivits av SMI [Smittskyddsinstitutet, pers medd 95 02 23]. Kring varje patient görs smittutredning (bakteriella odlingar) av omgivningen; personal och medpatienter. Normalt isoleras patient med MRSA på infektionsklinik. Handläggningen sker i samråd med infektionsspecialist, bakteriologiskt laboratorium, sjukshygieniska enheten och smittskyddsläkare. Smittfrihet från MRSA definieras som patient med intakt hud och negativa odlingar under tre konsekutiva dagar i frånvaro av antibakteriell behandling.

### FALLBESKRIVNINGAR

Vi presenterar här fem patientfall där MRSA isolerades under 1994 vid Norrlands Universitetssjukhus, Umeå, där PFGE har bidragit till den epidemiologiska kartläggningen. Flera fall låg nära varandra i tiden, och initialt misstänktes ett samband mellan patienterna.

#### Patient 1

Gosse född 1991. I samband med sårinfektioner på ett finger gjordes sår-odling, varifrån MRSA isolerades. Poj-

ken hade nyligen hemkommit från vistelse i Sydamerika. Ingen säker kontakt med patienterna 2-4 kunde påvisas.

#### Patient 2

Man född 1912. Mannen var diabetiker och sökte på grund av cervikal instabilitet, som åtgärdades operativt med dekompression. Han behandlades pre- och postoperativt med flukloxacillin. Postoperativ sårinfektion utvecklades med initial växt av *E coli*, varefter patienten behandlades med cefuroxim, metronidazol och klindamycin.

Vid förnyad sår-odling påvisades växt av MRSA.

#### Patient 3

Man född 1902. Mannen kom till sjukhuset på grund av streptokocksepsis. Han vårdades samtidigt på samma sal som patient 2. I samband med smittspridningsutredning av patient 2 togs näsprov från patient 3, vilket visade växt av MRSA.

#### Patient 4

Man född 1972. Patienten skadades under FN-tjänstgöring i Mellanöstern. Efter operativ åtgärd, antibiotikabehandling och en månads sjukhusvistelse i Israel överflyttades han för vård i Sverige. Han behandlades initialt på plastikkirurgiska kliniken i Umeå. Sår-odlingar efter ankomst visade växt av MRSA.

#### Patient 5

Kvinna född 1906. Kvinnan som var diabetiker opererades i januari 1994 för nageltrång i en tå på höger fot. I efterföljandet var sår-odlingarna dåliga, och hon behandlades därför med cirkulär-gips. Från ett skavsår under höger knä isolerades MRSA vid ett provtagnings-tillfälle.

### RESULTAT

I Figur 1 ser man resultatet av PFGE-analys av de MRSA-stammar som isolerades från våra fem patienter. Av Figur 1 kan följande slutsatser dras: rad 2 a, 2 b är material från samma patient vid två olika provtagnings-tillfällen. Denna bakteriestam har troligen överförts till patient 3, som delade rum med patient 2. Resultatet tyder på en spridning av samma bakterieklon. Övriga bakteriestammar visar sinsemellan inget gemensamt DNA-mönster, vilket tyder på att dessa bakteriestammar är av olika ursprung.

Provtagning på berörda vårdavdelningar visade ingen spridning av MRSA till vårdpersonal eller övriga patienter. Klinisk utläkning förelåg i samtliga fall utom för patient 2, hos vilken man sex månader efter den primära od-

lingen fortfarande kunde påvisa MRSA.

## DISKUSSION

Under en relativt kort tidsperiod identifierades ovanstående fem patienter med MRSA vid vårt sjukhus. Efter typning av bakterien påvisades mec A-genen med PCR-teknik. Likartat antibiotikaresistensmönster förelåg för tre (fall 2, 3, 4) respektive två isolat (fall 1, 5). Vid PFGE var två isolat identiska (fall 2, 3), resterande tre isolat visade ingen identitet sinsemellan vid gelelektrofores. Likartat gelelektroforesmönster förelåg emellertid hos patient 1 och 5. PFGE är speciellt lovande vid MRSA, då äldre metoder endast i mycket liten grad kan bidra till subtypning av bakterier [F Espersen, Statens Seruminstitut, Köpenhamn, pers medd, 1995].

PFGE-analys kan med fördel användas vid epidemiologiska studier, där man kan ta till vara metodens snabbhet, enkelhet och höga diskriminationsförmåga. Våra preliminära undersökningar tyder på att metoden har högre diskriminationsförmåga än undersökning med plasmid- och antibiotikaresistensmönster.

PFGE har även visat sig vara användbar för typning av andra nosokomiellt spridda bakterier, t ex *Clostridium difficile* och vankomycinresistenta enterokocker [10]. Vid vår institution har vi även haft god erfarenhet av PFGE för typning och epidemiologisk utredning av infektioner orsakade av stafylokokker, streptokocker och stomatokocker [M Granlund och M Nordgren, Umeå, pers medd, 1996].

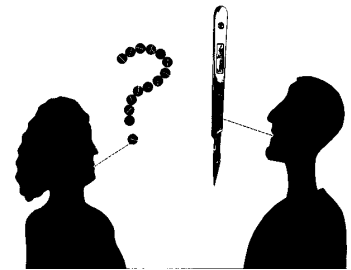
För närvarande kan PFGE inte användas för artbestämning av bakterier. Fortsatt forskning i förening med databehandling av analysresultaten kan i framtiden kanske möjliggöra att PFGE används rutinmässigt för typning och även artbestämning av bakterier.

## Referenser

1. Dominguez MA, de Lencastre H, Linares J, Tomasz A. Spread and maintenance of a dominant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) clone during an outbreak of MRSA disease in a Spanish hospital. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 2081-7.
2. Brumfitt W, Hamilton-Miller J. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *N Engl J Med* 1989; 320: 1188-96.
3. Maple MAC, Hamilton-Miller JMT, Brumfitt W. World wide antibiotic resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet* 1989; 1: 537-40.
4. Voss A, Milatovic D, Wallrauch-Schwarz C, Rosdahl VT, Braveny I. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994; 13: 50-5.
5. Schwartz DC, Cantor CR. Separation of

yeast chromosome-sized DNA's by pulsed field gradient gel electrophoresis. *Cell* 1984; 37: 67-75.

6. Chu G. A Companion to Pulsed-field gel electrophoresis: theory and practice. *Methods Enzymol* 1990; 1: 129-42.
7. Arshad MF, Dunn FJ, Vega R, Valvano JW, Serwer P. Progress in developing improved programs for pulsed fields agarose gel electrophoresis of DNA. *Electrophoresis* 1993; 14: 344-8.
8. Murakami K, Minamide W, Wada K, Nakamura E, Terakoa H, Watanabe S. Identification of methicillin-resistant strains of staphylococci by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1991; 299: 2240-4.
9. Hedin G, Löfdahl S. Detecting methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis*-disc diffusion, broth breakpoint or polymerase chain reaction? *APMIS* 1993; 101: 311-8.
10. Miranda AG, Singh KV, Murray BE. DNA fingerprinting of *Enterococcus faecium* by pulsed-field gel electrophoresis may be a useful epidemiologic tool. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 2752-7.



# 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