

Mikrobiell kontaminasjon av hansker under endodontisk behandling

Forekomst av resistente bakterier

av

Aurora Steiro MacQueen

Masteroppgave ved Det odontologiske fakultet

Universitetet i Oslo

2023



Veiledere:

Pia Titterud Sunde – spesialist i endodonti, førsteamanuensis endodonti

Trude Handal - spesialist i endodonti, førsteamanuensis endodonti

Morten Enersen – spesialist i periodonti, førsteamanuensis mikrobiologi

Anne Karin Kristoffersen – Senioringeniør

Mikrobiell kontaminasjon av hansker under endodontisk behandling - *Forekomst av resistente bakterier*

Innholdsfortegnelse

1. Sammendrag	3
2. Introduksjon	4
2.1 Hanskebruk under endodontisk behandling	4
2.2 Foregående studie	4
2.3 Endodontiske infeksjoner	4
2.4 Antibiotikaresistens – mekanismer, utfordringer og økning i verden	6
3. Materiale og metoder	10
3.1 Bakterieprøver	10
3.2 Rendyrkning og artsidentifisering	10
3.3 Antibiotikaresistenstesting ved hjelp av lappediffusjonsteknikk	11
3.4 ESBL/VRE	12
4. Resultater	14
4.1 Behandler og prøvetakningstidspunkt	14
4.2 Rendyrkning av bakterieprøvene og gramfarging	14
4.3 Artsidentifisering	15
4.3 Antibiotikasensitivitet- og resistenstesting	16
4.5 Testing av vekst av ESBL-produserende bakterier og VRE	19
4.6 Oversikt resultater	22
5. Diskusjon	23
6. Konklusjon	26
6. Referanser	27

1. Sammendrag

Introduksjon. I juni 2022 presenterte masterstudenter ved Det odontologiske fakultet, Universitet i Oslo (UiO) masteroppgaven *Bakteriell kontaminasjon av hansker under endodontisk behandling* (1). Behandlingene var utført av studenter og spesialistkandidater ved fakultetet. Studien rapporterte bakteriell kontaminasjon i 27,5% av prøvene tatt fra hansker under behandlingen. Etter denne oppgaven var det et ønske om å studere temaet i mer detalj.

Mål med studien. Målet med studien var å identifisere bakteriene som ble detektert etter dyrkning av hanskeprøver, og kartlegge forekomst av antibiotikaresistens hos disse bakteriene.

Materiale og metode. Bakteriestammer fra 18 prøver ble rendyrket. Bakterieartene ble identifisert og testet for antibiotikaresistens mot de antibiotika som vanligvis benyttes i odontologisk praksis; clindamycin (CC 2 µg), penicillin (P 2IU) og amoxicillin (AMX 25 µg). Resistens ble også testet overfor et bredspektret antibiotikum ofte benyttet innen medisin, ciprofloxacin (CIP 5 µg). Dette ble utført ved hjelp av lappediffusjonsteknikk. I tillegg ble vekst av vankomycinresistente enterokokker (VRE) og ekstendert spektrum betalaktamase (ESBL)-produserende bakterier undersøkt. Dette ble kartlagt ved dyrking på CHROMAGAR-spesialskåler som inneholder β-glucuronidase, en fargemarkør for å skille vekst av ulike bakteriegrupper.

Resultater. Dyrking av bakteriestammene viste 23 prøver med vekst; 15 grampositive, 7 gramnegative og én uidentifisert koloni. Artsidentifisering ved hjelp av analyseverktøyet Vitek2 påviste en rekke bakteriearter, med overvekt av *Pantoea spp.* og *Staphylococcus epidermidis*. Alle bakteriestammene med unntak av én prøve viste resistens mot ett eller flere antibiotika. Det ble registrert at mange enkeltkolonier var resistente mot flere antibiotika. Testing av vekst av ESBL-produserende bakterier og VRE viste at 20 av 23 stammer viste vekst på enten én eller begge spesialskåler.

Konklusjon. Kontaminasjon av hanskene besto i hovedsak av bakterier ofte funnet i menneskets normalflora, særlig på hud og slimhinner. Det ble også identifisert flere infeksjøse bakterier kjent fra mage-tarmkanalen og omgivelser. Forekomsten av resistente bakterier er høy i det undersøkte materialet. Graden av multiresistens var også høyere enn forventet.

2. Introduksjon

2.1 Hanskebruk i endodontisk behandling

Bruk av hansker skal hindre at det overføres smitte fra pasient til behandler og omvendt. Det er tidligere vist at det finnes bakterier på hansker fra uåpnede hanskebokser (2). Andre faktorer som hanskemerke og - type, er også vist å ha betydning for kontaminasjon med lekkasje og overføring av mikroorganismer fra behandlerens hender (3). For å holde forurensingen av bakterier på et minimalt nivå er det derfor utarbeidet standardiserte prosedyrer for hanskebruk (4). Riktig hanskebruk under endodontisk behandling er viktig for å hindre tilførsel av bakterier til rotkanalen. Ved Avdeling for endodonti, Universitetet i Oslo (UiO), har flere studier undersøkt mikrobiell kontaminasjon under endodontisk behandling, blant annet av guttaperka, kofferdam og hansker (1,5,6).

2.2 Foregående studie

Denne studien bygger videre på “*Bakteriell kontaminasjon av hansker under endodontisk behandling*” av Freyvoll, Gjerstad og Lundgaard (1), en masteroppgave ved Det odontologiske fakultet, UiO.

Masteroppgaven (1) undersøkte mikrobiell kontaminasjon på hansker underveis i endodontisk behandling ved å ta prøver av hanskene til 20 behandlere, 10 studenter og 10 spesialistkandidater, på to ulike tidspunkt. Kontaminerte hansker ble påvist hos ni av de 20 behandlerne. Grampositive kokker dominerte, men også gramnegative staver, kokker og kokkoide staver ble funnet. Resultatene indikerer at operasjonsfeltet kan ha vært kontaminert, noe som kan gi økt risiko for tilførsel av eksogene mikroorganismer til rotkanalen under endodontisk behandling.

2.3 Endodontiske infeksjoner

Endodontiske infeksjoner er polymikrobielle, og mikroorganismene er hovedsakelig lokalisert intraradikulært, men kan også spre seg ekstraradikulært.

Det er identifisert ca. 700 ulike bakteriearter i endodontiske infeksjoner (7). Rundt 45% av disse antas å ikke la seg dyrke.

Det skilles mellom primære og sekundære eller persisterende endodontiske infeksjoner. Primærinfeksjon vil si at det er første gang pulpa er infisert, og tannen ikke tidligere har blitt endodontisk behandlet. Prøvene analysert i denne studien er samlet under behandling av både primære og sekundære/persisterende infeksjoner.

Bakterier som hyppig identifiseres ved primære infeksjoner er anaerobe gramnegative slekter som *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Campylobacter*, *Treponema*, *Tannerella*, *Pseudoramibacter*, *Olsenella*, *Dialister*, *Filifactor*, *Cyanobacteria*, *Chloroflexi* eller *Acidobacteria* (8).

Flere studier viser også en assosiasjon mellom symptomatiske periapikale infeksjoner og forekomst av *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium* og *Peptostreptococcus*. (9,10)

Det finnes en rekke faktorer som avgjør hvilke arter som dominerer i infeksjonen, som for eksempel mikrobielle interaksjoner og tilgang på næring og oksygen. Det er vist at rotkanalfloraen endres dersom den primære infeksjonen får stå ubehandlet. Anaerobe gramnegative bakterier vil øke i antall, samtidig som andelen fakultative bakterier reduseres (11).

Ved sekundære eller persisterende endodontiske infeksjoner er bakteriefloraen ofte dominert av bakterier som ikke like hyppig er til stede ved primære infeksjoner. Her ser man en ofte overvekt av grampositive fakultative bakterier. Man finner ofte bakteriearter som *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* og slektene *Streptococcus*, *Staphylococcus*, i tillegg til *Candida* arter. (12)

Man antar at en årsak til persisterende endodontiske infeksjoner er brudd på de aseptiske rutinene (13). Kontamineringen kommer da fra orale og ikke-orale mikroorganismer. Disse kan stamme fra blant annet spytt, slimhinner, hud eller omgivelsene. Hyppig identifiserte arter er *Staphylococcus spp.* fra hud, *E. faecalis* fra mat eller *E. coli* fra mage-tarmkanalen (14).

Bakterieartene som oftest er identifisert i ekstraradikulære apikale lesjoner er *Actinomyces israelii*, *Actinomyces viscosus* og *Propionibacterium spp.* Disse artene kan danne svært

motstandsdyktige kolonier i vevet rundt roten, noe som gir en betydelig dårligere behandlingsrespons og prognose på behandlingen (15).

Målet med endodontisk behandling er å forhindre utviklingen av apikal periodontitt og/eller bidra til tilheling av lesjonen gjennom behandling. Ved en infeksjon i pulpa vil det være bakterier i kanalen både som biofilm og planktoniske bakterieceller (16). De første bakteriene som kommer inn i kanalsystemet er sårbare planktoniske bakterier. Endodontisk behandling av pulpitt der pulpa ikke har vært direkte eksponert for munnhulens mikroflora, har derfor bedre prognose enn behandling av pulpa som har vært eksponert for disse mikroorganismene over tid (13). Etter hvert som infeksjonen blir etablert, dannes det biofilm som “modnes” med økende alder. Bakteriene blir gradvis svært motstandsdyktige både mot vertens eget immunforsvar og mot forsøk på å eliminere infeksjonen ved hjelp av kjemomekanisk fjerning. I biofilmen er det økt uttrykk av virulensfaktorer og utveksling av genetisk materiale mellom mikroorganismene (17,18).

2.4 Antibiotikaresistens – mekanismer, utfordringer og økning i verden

Av det nasjonale forbruket av antibiotika sto tannleger for 5,3 % i 2014, mot 4,5 % i 2004 (19) men forbruket gikk noe ned igjen under gjennomføringen av regjeringens Handlingsplan mot antibiotikaresistens i helsetjenesten fra 2015-2020 (19). Tross dette er det en økende tendens til forskrivning av mer bredspektrede medikamenter (19). Resistensproblemet er derfor aktuelt, også for tannleger. Overforbruk av antibiotika er en av flere mekanismer som bidrar til økningen av resistente bakterier. Det er særlig observert økende antibiotikaresistens hos gule stafylokokker og enterobakterier (20), men de siste årene er det registrert en økning av antibiotikaresistens i alle miljøer, også i munnhulefloraen (21,22).

Resistens er en egenskap som kan forekomme naturlig, men stadig flere bakteriearter erverver nå også resistens mot forskjellige typer antibiotika. Dette betyr at risiko for utvikling av multiresistens er stor. Mekanismene bakterier bruker for å oppnå resistens, er variert, men angrepsvinklene kan være følgende (20):

- Nedbryting av det aktuelle antibiotikum direkte ved hjelp av enzymer, produsert av bakterien.

- Eliminering av antibiotikum ved å “pumpe” det ut av cellen.
- Hindre import av antibiotikum, ved å gjøre membranen mindre gjennomtrengelig.
- Lage nye målmolekyler for det aktuelle antibiotikum, som konkurrerer med det opprinnelige.

For å oppnå disse nye egenskapene må bakteriens DNA forandres, slik at det kan kodes for nye enzymer og membranproteiner etc. Disse nye kodesekvensene kalles resistensgener og kan overføres mellom bakterier. Dette medfører at resistensegenskapen(e) sprer seg raskt fra resistente bakterier til andre bakterier i nærheten.

Denne horisontale overføringen av gener er studert i detalj og kan deles i tre typer:

- Transduksjon. Her hjelpes overføringen av bakteriofager (bakterievirus).
- Transformasjon. Her tar bakterien opp fritt DNA fra omgivelsene, for eksempel fra døde bakterier.
- Konjugasjon. Her overføres genene fra celle til celle ved direkte kontakt. Genene opptrer som plasmider, små sirkulære minikromosomer.

Meticillinresistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) forårsaker alvorlige infeksjoner og er etter hvert blitt vanlig i store deler av verden. Som følge av restriktivt antibiotikaforbruk i Norge, har vi vært relativt lite utsatt. Det er likevel svært viktig å overvåke forekomsten av MRSA.

Ekstendert spektrum betalaktamaser (ESBL) er enzymer som bryter ned betalaktam-antibiotika. Enzymene produseres av grampositive og gramnegative bakterier og har ulik substratspesifisitet, noen er bredspektrede og noen er smalspektrede. De siste årene er ESBL påvist i økende grad i *E. coli*-bakterier og i enterokokker. Forekomsten er foreløpig lav i Norge, men også her rapporteres det om økende forekomst. I 2018 ble det meldt inn 83 tilfeller til Meldingssenteret for smittsomme sykdommer (MSIS) (23).

Vankomycin er et antibiotikum som virker ved å hemme syntesen av cellevegger i grampositive bakterier. Bakterier som utvikler resistens mot vankomycin gjør dette ved å lage alternative reaksjonsveier for syntese av celleveggen. På 1980-tallet ble de første vankomycinresistente enterokokker (VRE) oppdaget, og det er vist at denne type resistens gir

betydelig redusert effekt av antibiotikabehandling ved infeksjoner. Sykehjem og andre helseinstitusjoner er særlig utsatt, og smitte skjer ved kontakt med kontaminert hud samt overflater i behandlingsrom mm. I 2018 ble det meldt inn 254 tilfeller av VRE til MSIS (24).

Ciprofloxacin er et bredspektret antibiotikum av fluoroquinolon-typen som virker mot mange forskjellige bakteriearter. Gjennom mange år har det vært et overforbruk av denne typen antibiotika, særlig innen veterinærmedisin. Siden bruken har vært omfattende i mange år, har mange bakterier utviklet resistens, noe som reduserer effektiviteten (25).

“Norsk overvåkingssystem for antibiotikaresistens hos mikrober” (NORM) utgir årlige statusrapporter om antibiotikaresistens innen human medisin, veterinærmedisin, landbruk og matproduksjon (26). Rapportene viser økende forekomst av antibiotikaresistens i alle disse miljøene.

På verdensbasis er antibiotikaresistens en markant trussel mot moderne sykehusdrift. Det globale omfanget er ikke kjent, men der man har overvåkning er utviklingen alarmerende. Man regner med at det dør 25000 mennesker hver dag, som en direkte konsekvens av antibiotikaresistens (27). Antall ekstra liggedøgn på sykehus i Europa, beregnes til 2,5 millioner per år. Tilsvarende tall for Thailand er 38000 dødsfall per år og over 3 millioner ekstra liggedøgn (28). Dessuten kan en beregne at dødsrisikoen etter infeksjon øker med 50 %, dersom bakterien er resistent, slik at de økonomiske konsekvensene er store, både for samfunnet og pasienten. Prisen for behandlingen av en antibiotikaresistent infeksjon beregnes til å være opptil fire ganger høyere enn for en infeksjon med bakterier som responderer på standard antibiotikabehandling (29).

Fra et internasjonalt synspunkt, er forbruket av antibiotika relativt lavt innen odontologi i Norge. Forbruket har likevel vært økende og tannleger har skrevet ut mer bredspektrede preparater som amoxicillin og clindamycin i 2021, ifølge NORM (26).

Håndhygiene og hanskebruk i medisin og odontologi er med på å hindre spredning av resistente bakterier. Hanskebruk minimerer, men eliminerer ikke forurensing av bakterier fra hud til hanske og omvendt. Hender med hansker overfører således bakterier mellom personer og utstyr på lik linje med hender uten hansker. Studier har vist at helsepersonell kan ha forurensede hansker, også under tannbehandling (1, 3). Det har derimot ikke vært undersøkt

om bakterier på hansker under tannbehandling også kan være en mulig kilde til spredning av antibiotikaresistens.

Mål med studien

Målet med studien var å artsbestemme bakteriene som ble funnet i den foregående hanskestudien (1) og kartlegge forekomsten av antibiotikaresistens hos disse bakteriene. Vi ønsket også å undersøke hvorvidt ESBL-produserende bakterier og VRE var til stede.

3. Materiale og metode

3.1 Bakterieprøver

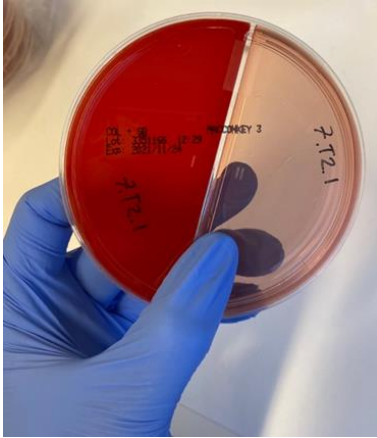
Denne studien består av prøvemateriale med påvist bakterievekst fra hansker benyttet under endodontisk behandling på Avdeling for endodonti, UiO. Prøvene stammer fra 5 ulike områder på hanskene, tatt på to ulike tidspunkter under behandlingen. Prøve ved tidspunkt én (T1) ble tatt etter at kofferdam var påsatt, og prøve ved tidspunkt to (T2) ble tatt rett før mellomseanse-innlegg eller permanent rotfylling. Det ble identifisert bakterievekst på 24 prøver av totalt 40. Disse ble merket fra 1 til 24 og nedfrosset på Todd-Hewitt frysemedium på -72°C .

3.2 Rendyrking og artsidentifisering

Fra fryser ble det tatt ut prøver nummerert fra 1 til 24 og dyrket opp på Brucella blodagar-skåler (BD) (30) ved 37°C i 24 timer. Prøvenummer 19-24 viste ingen klar vekst av bakteriekolonier etter 24 t og ble dyrket opp igjen og inkubert i ytterligere 24 t. Prøver som ikke ga vekst etter andre dyrkningsforsøk, prøvenummer 19, 20, 21, 22, 23 og 24, ble ekskludert (nullresultat).

Prøvene som antydte eller viste vekst av mer enn én type koloni, nr. 2, 3, 4, 11, 13, 15, 16 og 18, ble videre separert og rendyrket. Disse ble selektert ved hjelp av "Single cell colony technique", dyrket på blodagar-skåler og inkubert i 24 t ved 37°C . Ved liten eller ingen vekst, ble skålene inkubert ytterligere 24 t. Prøver med nullvekst etter 48 timer ble dyrket opp på nytt og ekskludert ved dobbelt nullresultat. Prøvene 2 og 4 ble likevel kategorisert som rendyrkede etter to runder med inkubasjon, uten vekst av andre arter.

Alle prøvene ble dyrket på MacConkey-skåler (31) for å identifisere gramnegative arter (tarmbakterier). Disse skålene består av et medium som fremmer vekst av gramnegative arter. Prøvene ble nummert med desimaltall der det ble funnet flere arter i prøven, for eksempel ble prøve 3 delt i prøve 3.1 og 3.2. Figur 1 viser dyrking på MacConkey-skål.



*Figur 1: MacConkey – duoskål. Todelt med ett medium som fremmer vekst av gramnegative (GN) bakteriearter (t.h.) og *Brucella* blodagar (BD) best egnet for dyrking av grampositive (GP) arter (t.v.) Alle prøver ble dyrket på begge sider av skålen og ved vekst på medium for GN-arter ble prøven delt opp i to nye prøvenummer.*

Alle rendyrkede bakteriekolonier ble analysert i det fenotypiske analyseverktøyet Vitek2 for artsidentifisering (32). Bakterieprøvene ble slemmet opp i en løsning med 0,45% NaCl med en celletetthet på 0.48-0.55 McFarland, en standardisert skala for å beregne density/celletetthet (referanseløsninger på 0 – 0.37 – 0.67). Løsningen ble pipettert over i kassetter for henholdsvis gramnegative (GN) og grampositive (GP)-stammer før de ble kjørt gjennom Vitek2 analyseverktøy.

3.3 Antibiotikaresistenstesting ved hjelp av lappediffusjonsteknikk

Det ble testet for resistens mot de tre mest brukte antibiotika i odontologisk praksis: clindamycin (2 µg), penicillin (2 IU), amoxicillin (25 µg) i tillegg til ciprofloxacin (5 µg). Dette ble gjort ved hjelp av agar-lappediffusjonsteknikk med små antibiotikalapper (Sensi-Disc BD - BBL) (33), illustrert i figur 2. Ciprofloxacin ble valgt med ettersom dette er et bredspektret antibiotikum som foreskrives ved persisterende infeksjoner (34,35).



Figur 2: Illustrasjonsfoto lappediffusjonsteknikk. Hver lapp er produsert med en bestemt antibiotika-konsentrasjon, som er tilpasset etter “European committee on antimicrobial susceptibility testing”, EUCAST-standard (36).

Ifølge prosedyren med Sensi-Disc BD – BBL ble hver rendyrket koloni slemmet ut med 0,85 % NaCl-løsning til en celletetthet på 0,5 McFarland. I generell mikrobiologi brukes McFarland-standarder for å beskrive om turbiditeten er innenfor optimalt område. For å standardisere den videre testingen, ble turbiditeten justert. En McFarland-enhet på 0,5 tilsvarer en OD ved 600 nm på 0,8-1,5. Dette tilsvarer en bakterietetthet på $1,0-1,5 \times 10^8$ CFU/ml. Bakterieløsningen ble overført til agarskåler i et jevnt lag. Antibiotikalapper ble påført ved hjelp av en dispenser. Skålene sto i ro i 20 minutter før de ble overført til varmeskap og inkubert ved 37°C i 24t. Avlesning av diameter ble utført med linjal og skyvelære, dobbeltsjekk og deretter krysssjekket av ekstern medhjelper for å begrense feilkilder.

Den avleste diameter viser resistens (R), intermediær (I) eller sensibilitet (S), avhengig av sonediameter (Tabell 1).

<u>Antibiotikum</u>	Sonediameter (mm)		
	R	I	S
P2 (Penicillin) 2 IU	14		15
CC (Clindamycin) 2 µg	14	15-20	21
AMX (Amoxicillin) 25 µg	<13	14-17	>18
CIP (Ciprofloxacin) 5 µg	15	16-20	21

Tabell 1. Referanseverdier for sonediameter for hvert antibiotikum. R = Resistent. I = Intermediær. S = Susceptible ifølge EUCAST-standard (36).

3.4 ESBL/VRE

Prøvematerialet ble også testet for vekst av VRE og ESBL-produserende bakterier på CHROMID ESBL/CHROMID VRE skåler (Biomerieux) og inkubert i henholdsvis 24, 36 og 48 timer (37).

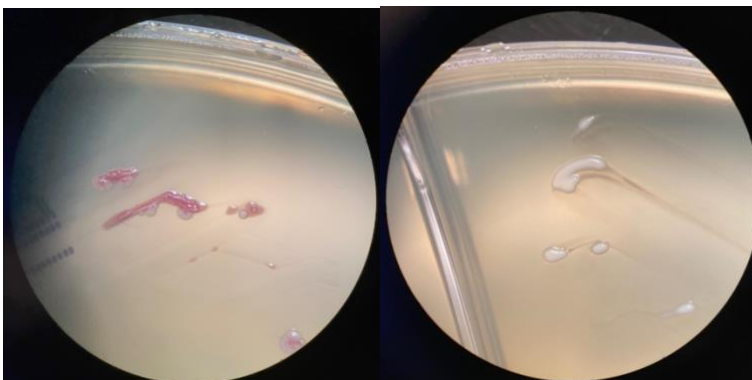
Ved hjelp av «single cell colony technique» ble 3 til 5 enkeltkolonier plukket fra blodagarskåler med steril øse og sådd ut på CHROMagar. Disse ble deretter inkubert ved 37°C i 24 t. Skålene med tydelig vekst ble tatt ut og registrert, resterende skåler ble satt tilbake på 37°C i 24 t, inspisert og registrert. Prosessen ble gjentatt en tredje gang før skålene uten vekst etter 72 t ble definert som negative (se tabell 4.)

De nevnte skåltypene er utviklet for å gi vekst av kolonier med resistensgener mot aktuelle antibiotika. Vekst på ESBL-skåler tyder på resistens mot de fleste betalaktamantibiotika, mens vekst på VRE skål tyder på deteksjon av resistens mot vankomycin.

CHROMID® ESBL er en agar som inneholder cefpodoxime. Dette er et antibiotikum som fungerer som markør for denne typen resistens. Metoden er rask, har høy spesifisitet og det er lite behov for alternative kontrolltester.

Fargen på bakterieveksten forteller noe om hvilken bakterieart som er til stede da ulike arter gir ulike standardiserte fargeuttrykk (37). CHROMagar-skålene inneholder β -glucuronidase, en fargemarkør for å skille ulike bakteriegrupper, se figur 3.

- *E. coli*: rosa mot burgunder-farge indikerer “ β -glucuronidase-producing” kolonier
- KESC (Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Citrobacter): blå/grønn til brun/grønn farge indikerer β -glucosidase-producing kolonier.
- Proteae (Proteus, Providencia, Moraganella): mørk til lys brun farge indikerer “deaminase-expressing strains”.



Figur 3: Illustrasjonsfoto fra mikroskop av bakterievekst i ulike farger på ESBL/VRE-skåler.

4. Resultater

4.1 Behandler og prøvetakningstidspunkt

Den foregående hanskestudien (1) bakterieprøvene er samlet fra innhentet info om diagnose ved behandlingstidspunkt og prøvetidspunkt. Tabell 5 i slutten av resultatkapittelet viser oversikt over dette i sammenheng med resistensresultatene.

De 23 positive prøvene er samlet inn fra totalt ti behandlere (Tabell 5, kolonne 3), fem Spesialistkandidater og fem masterstudenter. Ni av prøvene var innsamlet ved første prøvetakningstidspunkt (T1) og 14 fra andre (T2).

Behandler S (1) står for seks av de positive prøvene, både ved første (T1) og andre (T2) prøvetakningstidspunkt. Behandler K (2) står for tre av de positive prøvene, S (4) står for tre positive prøver. Behandlere S (3), K (5), K (7) og K (8) står for to positive prøver hver. Behandlere K (6), S (9) og S (10) står hver for én positiv prøve. Utvalget er for lite til å kunne si noe om sammenhengen mellom diagnose og positiv prøve.

Totalt 21 av 23 prøver som ble testet viste vekst på spialskårer for ESBL-produserende bakterier og/eller VRE. 12 av 13 prøver fra studenter og 7 av 9 fra spesialistkandidater. 7 av 9 prøver tatt ved T1 viste resistens mot én eller flere av antibiotika/ESBL/VRE og 14 av 14 prøver tatt ved T2 viste resistens.

4.2 Rendyrkning av bakterieprøvene og gramfarging

Av de 24 prøvene mottatt ga 18 prøver vekst, (nr. 1-18). Prøve nr. 19-24 ga ingen vekst etter 24t inkubering og ble dyrket opp igjen og inkubert i ytterligere 24 timer før de ble kassert pga. nullvekst.

Prøvene som var høstet inn fra den foregående hanskestudien var blitt frosset ned som antatt rendyrkede. Ved dyrking på Blodagar-skåler ble det imidlertid tydelig at flere av skålene, prøve 3, 11, 13, 16 og 18 hadde vekst av mer enn en type koloni.

For å avgjøre om bakteriekoloniene var bakteriearter av gramnegativ (GN) eller grampositiv (GP) type, ble alle koloniene dyrket opp igjen på MacConkey agar (MAC) – skåler. Skålene hvor det så ut til å være flere ulike kolonier ble rendyrket med single cell colony – technique. Alle kolonier ble forsøkt dyrket på medium for både GN og GP-arter.

Prøvene 3, 11, 13, 16 og 18 viste vekst av både GN og GP-arter. Disse prøvene ble derfor gitt nye navn. Prøve 3 ble delt i prøve 3.1 og 3.2. Prøve 11 ble delt i prøve 11.1 og 11.2 etc. Det ble konkludert med 15 grampositive (GP), 7 gramnegative (GN) og en uidentifisert koloni, prøve 15. Denne viste dominerende GN bakterier ved gramfarging, men var ikke mulig å identifisere definitivt.

4.3 Artsidentifisering

Etter å ha kategorisert prøvene etter GN/GP ble de undersøkt ved hjelp av det fenotypiske analyseverktøyet Vitek2 for artsidentifisering (32). Totalt antall av hver art identifisert er samlet i tabell 2. Identifikasjonens nøyaktighet angis i prosentcore. Ved høy prosentcore (99-100%) og benevningen “*excellent match*” kan man forvente korrekt identifikasjon. Alle resultater var 99% match eller mer, med unntak av prøve 4, der resultatet var 50/50 mellom *Micrococcus luteus* og *Micrococcus lylae*. Denne prøven ble benevnt *Micrococcus ssp.*

Prøve 15 viste seg krevende å rendyrke og dermed ikke mulig å artsbestemme. Etter gjentatte gramfarginger og Vitek2-analyser ble denne prøven stående som uidentifisert gramnegativ art.

Prøve 11 viste to typer kolonier. Den ene, kalt 11.1 lot seg identifisere, og det ble utført resistenstester. Prøve 11.2 var krevende å rendyrke. Etter analyse med Vitek2 og dyrking på MacConkey-, samt ESBL/VRE-skåler, var det ikke nok materiale til en ny oppdyrking. Det ble derfor ikke utført resistenstest på denne prøven.

Bakteriearter identifisert	Antall prøver med denne arten og prøvenummer.
<i>Brucella melitensis</i>	1 (3.2)
<i>Methylobacterium spp.</i>	2 (11.2 og 13.2)
<i>Micrococcaceae spp.</i>	1 (3.1)
<i>Micrococcus spp.</i>	1 (4)
<i>Pantoea spp.</i>	4 (2, 9, 16.2 og 17)
<i>Staphylococcus capitis</i>	2 (6 og 14)
<i>Staphylococcus cohnii urealyticus</i>	1 (1)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	6 (5, 7, 12, 13.1, 18.1 og 18.2)
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	2 (10 og 16.1)
<i>Staphylococcus hominis</i>	2 (8 og 11.1)
Uidentifisert	1 (15)

Tabell 2: Kolonne 1 – identifiserte arter (Vitek2Compact), kolonne 2 – antall identifisert og prøvenummer.

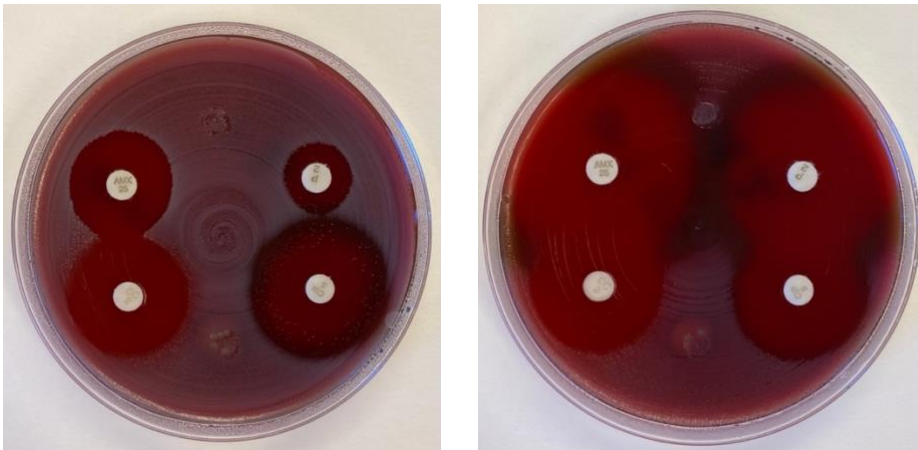
4.4 Antibiotikasensitivitets- og resistenstesting

22 av 23 prøver ble testet for antibiotikaresistens ved hjelp ved hjelp av agar-lappediffusjonsteknikk (Sensi-Disc BD – BBL) (33). Resistens mot 4 ulike antibiotikum ble undersøkt.

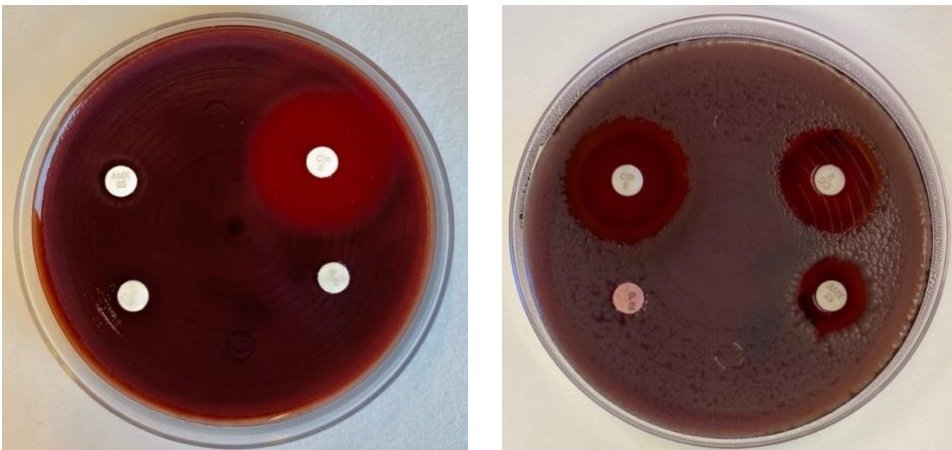
Prøvene 2, 9, 16.2, og 17 (*Pantoea spp.*), prøvene 7, 12, 18.1 (*S.epidermidis*), prøve 10 og 16.1 (*S.haemolyticus*) samt prøve 11.1 (*S. Hominis*) viste resistens mot penicillin (2 IU). Prøvene 2, 9, 16.2 og 17 (*Pantoea spp.*) samt prøve 10 (*S. Haemolyticus*) viste i tillegg resistens mot amoxicillin (25 µg). Prøvene 2, 9, 16.2 og 17 (*Pantoea spp.*) viste også resistens mot clindamycin (2 µg). Prøvene 2 (*Pantoea spp.*) viste resistens mot alle fire antibiotika.

Ciprofloxacinresistens ble påvist i prøvene 2 (*Pantoea spp.*) og 18.1 (*S. epidermidis*). Intermediær resistens mot clindamycin (2 µg) ble påvist i prøvene 1 (*S. Cohnii urealyticus*), 3.2 (*B. Melitensis*), 10, 16.1 (*S.haemolyticus*) og 18.2 (*S. epidermidis*). Det ble påvist intermediær resistens mot amoxicillin (25 µg) i prøve 16.1 (*S. haemolyticus*).

Figurene 4-7 viser hvordan lappediffusjon ble utført.



Figur 4 og 5: Lappediffusjonsteknikk prøve 18.1 og 18.2



Figur 6 og 7: Lappediffusjonsteknikk prøve 9 og 16.1

Resultatene av de avleste diametere for de ulike prøvene som viser resistens (R), intermediær (I) eller sensibilitet (S) er oppgitt i Tabell 3.

	P2	AMX25	CC2	CIP5
Prøvenummer	Sonediometer			
2	(R) 0	(R) 0	(R) 0	(R) 3
9	(R) 0	(R) 0	(R) 0	(S) 28
10	(R) 7	(R) 13	(I) 18	(S) 25
16.1	(R) 0	(I) 14	(I) 20	(S) 23
16.2	(R) 0	(R) 0	(R) 0	(S) 24
17	(R) 0	(R) 0	(R) 0	(S) 26
3.1	(S) 30<	(S) 30<	(S) 28	(S) 25
3.2	(S) 30	(S) 30<	(I) 18	(S) 22
15	(S) 23	(S) 28	(S) 28	(S) 22
6	(S) 30<	(S) 30<	(S) 25	(S) 28
7	(R) 13	(S) 23	(S) 28	(S) 28
8	(S) 30<	(S) 30<	(S) 26	(S) 26
11.1	(R) 13	(S) 22	(S) 25	(S) 25
11.2	Not done	Not done	Not done	Not done
5	(S) 15	(S) 23	(S) 25	(S) 25
12	(R) 14	(S) 20	(S) 24	(S) 23
14	(S) 30	(S) 30<	(S) 22	(S) 25
13.1	(S) 30	(S) 30<	(S) 25	(S) 27
13.2	(S) 30	(S) 30<	(S) 26	(S) 18
18.1	(R) 10	(S) 20	(S) 24	(R) 9
18.2	(S) 30<	(S) 30<	(I) 20	(S) 26
1	(S) 19	(S) 30<	(I) 16	(S) 25
4	(S) 21	(S) 30<	(S) 25	(S) 25

Tabell 3. Kolonne 1 – Prøvenummer organisert etter behandler. Kolonne 2-4 – sonediameterer (mm) etter 24 t. CIP5 - ciprofloxacin (5 µg), P2 - penicillin (2 IU), AMX25 - amoxicillin (25 µg) og CC2 - clindamycin (2 µg).

4.5 Testing av vekst av ESBL-produserende bakterier og VRE.

Etter opp til 48t inkubasjon viste 20 av 23 prøver vekst av enten VRE eller ESBL-produserende bakterier, eller begge, på CHROMID ESBL/CHROMID VRE skåler (Biomerieux). Resultatene er organisert i Tabell 4.

Prøvenr.	GP/GN	ESBL	VRE	Vitek2
2	GN	Blank/gul	Hvit/lilla	<i>Pantoea spp</i>
9	GN	Grønn	Lilla	<i>Pantoea spp</i>
10	GP	Hvit/matt	Neg.	<i>S. haemolyticus</i>
16.1	GP	Gul/hvit	Lilla	<i>S. haemolyticus</i>
16.2	GN	Neg.	Lilla	<i>Pantoea spp.</i>
17	GN	Blank	Lilla	<i>Pantoea spp.</i>
3.1	GP	Hvit	Grønn	<i>Micrococcaceae</i>
3.2	GN	Neg.	Grønn	<i>B. melitensis</i>
15	Uidentifisert	Neg.	Grønn	<i>Uidentifisert</i>
6	GP	Hvit/blank	Hvit	<i>S. capitis</i>
7	GP	Neg.	Neg.	<i>S. epidermidis</i>
8	GP	Blank/hvit	Neg.	<i>S. hominis</i>
11.1	GP	Neg.	Lys rosa	<i>S. hominis</i>
11.2	GN	Neg.	Hvit	<i>Methylobacterium spp.</i>
5	GP	Hvit/blank	Lilla	<i>S. epidermidis</i>
12	GP	Neg.	Neg.	<i>S. epidermidis</i>
14	GP	Neg.	Neg.	<i>S. capitis</i>
13.1	GP	Neg.	Rosa	<i>S. epidermidis</i>
13.2	GN	Neg.	Hvit	<i>Methylobacterium spp.</i>
18.1	GP	Neg.	Lilla	<i>S. epidermidis</i>
18.2	GP	Neg.	Lilla	<i>S. epidermidis</i>
1	GP	Grønn	Hvit	<i>S. cohnii urealyticus</i>
4	GP	Blank/gul	Grønn	<i>Micrococcus spp.</i>

Tabell 4: Kolonne 1 – Prøvenummer organisert etter behandler, kolonne 2 – resultat gramfarging, kolonne 3 – ESB - produserende bakterier, kolonne 4 – VRE , kolonne 5 – identifisert art/slekt.

Fargekoden viser tiden for inkubering. Grønn – inkubert i 24t, Blå – inkubert i 48t, Rød – inkubert i 72t.

Følgende prøver viste vekst på skåler for både ESBL-produserende bakterier og VRE: Prøve 1 (*S. cohnii urealyticus*), prøve 2, 9 og 17 (*Pantoea spp.*), prøve 3.1 (*Micrococcaceae spp.*) prøve 4 (*Micrococcus spp.*), prøve 5 (*S. epidermidis*), prøve 6 (*S. capitis*), og prøve 16.1 (*S. haemolyticus*).

Følgende prøver viste vekst av bakterier med vankomycinresistens, men var negative for betalaktamaseproduksjon: prøve 3.2 (*B. melitensis*), prøve 11.1 (*S. hominis*), prøve 11.2 og 13.2 (*Methylobacterium spp.*), prøvene 13.1, 18.1 og 18.2 (*S. epidermidis*), prøve 16.2 (*Pantoea spp.*) og prøve 15 (*uidentifisert*).

Følgende prøver var viste vekst av ESBL-produserende bakterier, men var VRE-negative: Prøve 8 (*S. hominis*) og prøve 10 (*S. haemolyticus*).

Skåler som hadde nullvekst etter 72 t ble registrert som negative. Prøve 3.2, 7, 11.1, 11.2, 12, 13.1, 13.2, 14, 15, 16.2, 18.1 og 18.2 var negative for ESBL-produserende bakterier. Prøve 7, 8, 10, 12 og 14 var negative for VRE. Prøver registrert som negative for både produksjon av betalaktamaser og vankomycinresistens var 7, 12 (*S. epidermidis*) og 14 (*S. capitis*).

4.6 Oversikt resultater

Aktuelle resultater fra foregående hanskestudie (1) satt i sammenheng med resultater i denne studien er sammenfattet i tabell 5. Utvalget i denne studien er likevel for lite til å trekke noen statistisk signifikante slutninger om sammenheng mellom diagnoser og resistensgrad.

Prøve nr.	Bakterie	Beh.	Diagnose	Prøvetidspkt. (T1/T2)	Resistens (R) (P/AMX/CIP/CC)	Intermediær (I) (P/AMX/CIP/CC)	vekst på ESBL/VRE
2	<i>Pantoea spp</i>	S (1)	Irreversibel pulpitt	T1	P/AMX/CIP/CC		Pos./pos.
9	<i>Pantoea spp</i>	S (1)	Irreversibel pulpitt	T1	P/AMX/CC		Pos./pos.
10	<i>S. haemolyticus</i>	S (1)	Irreversibel pulpitt	T1	P/AMX	CC	Pos./neg.
16.1	<i>S. haemolyticus</i>	S (1)	Irreversibel pulpitt	T2	P	AMX/CC	Pos./pos.
16.2	<i>Pantoea spp</i>	S (1)	Irreversibel pulpitt	T2	P/AMX/CC		Neg./pos.
17	<i>Pantoea spp</i>	S (1)	Irreversibel pulpitt	T2	P/AMX/CC		Pos./pos.
3.1	<i>Micrococcaceae spp</i>	K (2)	Nekrose, KAP, (endoperio)	T2			Pos./pos.
3.2	<i>B. melitensis</i>	K (2)	Nekrose, KAP, (endoperio)	T2		CC	Neg./pos
15	<i>Uidentifisert</i>	K (2)	Nekrose, KAP, (endoperio)	T2			Neg./pos.
6	<i>S. capitis</i>	S (3)	Revisjon pga karies	T2			Pos./pos.
7	<i>S. epidermidis</i>	S (3)	Revisjon pga karies	T1	P		Neg./neg.
8	<i>S. hominis</i>	S (4)	Irreversibel pulpitt	T2			Pos./neg.
11.1	<i>S. hominis</i>	S (4)	Irreversibel pulpitt	T2	P		Neg./pos
11.2	<i>Methylobacterium spp</i>	S (4)	Irreversibel pulpitt	T2	Not done	Not done	Neg./pos.
5	<i>S. epidermidis</i>	K (5)	Nekrose, KAP	T1			Pos./pos.
12	<i>S. epidermidis</i>	K (5)	Nekrose, KAP	T1	P		Neg./neg.
14	<i>S. capitis</i>	K (6)	Revisjon pga KAP	T1			Neg./neg.
13.1	<i>S. epidermidis</i>	K (7)	Revisjon pga KAP	T1			Neg./pos.
13.2	<i>Methylobacterium spp</i>	K (7)	Revisjon pga KAP	T1			Neg./pos
18.1	<i>S. epidermidis</i>	K (8)	Revisjon pga KAP	T2	P/CIP		Neg./pos.
18.2	<i>S. epidermidis</i>	K (8)	Revisjon pga KAP	T2		CC	Neg./pos
1	<i>S. cohnii urealyticus</i>	S (9)	Nekrose	T2		CC	Pos./pos.
4	<i>Micrococcus Spp</i>	S (10)	Nekrose	T2			Pos./pos.

Tabell 5: Kolonne 1 – Prøvenummer organisert etter behandler. Kolonne 2 - identifisert art/slekt. Kolonne 3 – type behandler: K – Spesialistkandidat, S – Student. Kolonne 4 – diagnose (KAP - Kronisk apikal periodontitt). Kolonne 5 - prøvetakningstidspunkt: T1 – første prøvetakningstidspunkt, T2 – andre prøvetakningstidspunkt.

Kolonne 6 og 7 – antibiotikaresistens: AMX – amoxicillin (25 µg), P – penicillin (2 IU), CC – clindamycin (2 µg), CIP – ciprofloxacin (5 µg). Kolonne 8 – vekst på CHROMagar-spesialskåler.

5. Diskusjon

I denne masteroppgaven ble det utført arts- og resistensbestemmelse på bakterier dyrket fra hansker under endodontisk behandling. Det ble undersøkt i hvilken grad bakteriene var resistente mot en eller flere ulike antibiotika som benyttes i tannlegepraksis. I en fersk hanskestudie fra Avdeling for endodonti, UiO (1) ble det funnet bakterier på 24 av 40 prøver tatt av hansker brukt under endodontisk behandling. I denne studien ble det benyttet de samme prøvene og påvist bakterier i 18 av disse, 15 grampositive arter, 7 gramnegative og en uidentifisert bakterie. Totalt ble det påvist 23 stammer av 10 ulike arter. Identifisering med analyseverktøyet Vitek2 viste stor variasjon, men med et stort innslag av stafylokokker.

Seks av prøvene viste *S. epidermidis*, en bakterie som finnes i normalflora på hud og slimhinne. Arten er fakultativ anaerob, sjelden patogen og en vanlig kontaminant (38, 39, 40). Fire av prøvene viste *Pantoea Spp.* Dette er en infeksjonsrelatert bakterie som hos mennesker er funnet i infeksjoner i GI-traktus, blod og urin. Den er også identifisert i vann, planter, frø, frukt og jord (41). To av prøvene viste *S. Capitis*, en annen art funnet i normalflora på hud, og særlig ansikt, hals og ører. Bakterien er relativt ufarlig for friske personer, men kan danne svært motstandsdyktig biofilm og gi alvorlige infeksjoner hos immunsupprimerte. Den er identifisert ved persisterende infeksjoner på kunstige hjerteklaffer. To av prøvene viste *S. hominis*. Dette er en annen opportunistisk normalflorabakterie ofte funnet på hud. Den er forbundet med «kroppslukt» og kan danne multiresistente stammer, men dette skjer oftest hos immunsupprimerte personer. To av prøvene viste *S. haemolyticus*, en annen bakterie ofte funnet i normalflora på hud. Dette er en sterkt opportunistisk bakterie. Ved infeksjon danner den svært motstandsdyktig biofilm, og er identifisert ved endokarditt, urinveisinfeksjoner, leddinfeksjoner og i sår (38, 39). To av prøvene i studien viste *Methylobacterium spp.*, som er en stor familie av bakterier funnet i vann, jord og på planter. Den er ofte identifisert i nosokomiale infeksjoner (42).

En prøve viste *S. cohnii urealyticus*, en GP kokk ofte funnet på hud. Bakterien er kjent for å ha en høy grad av resistens på linje med *S.aureus*. En prøve viste *Micrococcaceae spp.* Dette er en stor familie av bakterier funnet på hud, mucosa, oropharynx og øvre respirasjonssystem hos menneske, i tillegg i melkeprodukter, kjøtt og jord. Flere av underartene er

absessdannende og svært motstandsdyktige mot antibakteriell behandling. En prøve viste *B. melitensis*, en GN, infeksjons bakterie som kan gi sykdommen Brucellose. Infeksjonen skjer gjennom inntak av kontaminerte melkeprodukter, inhalasjon eller ved direkte kontakt med infiserte dyr (43). En prøve viste *Micrococcus spp.* Underarter av familien *Micrococcaceae spp.* er opportunistiske arter som finnes i normalflora på hud. Den er forbundet med alvorlige infeksjoner som endokarditt, meningitt og sepsis.

Ut fra disse resultatene er det rimelig å anta at en stor andel av bakteriene identifisert stammer fra kontaminasjon under behandling fra enten hud eller slimhinner, men det ble også funnet enkelte mer infeksjose arter, funnet både i orale og andre infeksjoner. Sammenheng mellom behandler, diagnose og resistens er organisert i tabell 5. Grunnet det lave antallet prøver i denne studien er det behov for videre undersøkelser for å avgjøre med statistisk signifikans om disse artene stammer fra den endodontiske infeksjonen eller kontaminasjon fra pasient/behandler.

Resistensbestemmelse med analyseverktøyet Sensi-Disc BD - BBL viste at 13 av 23 stammer var resistente eller interseptiv mot ett eller flere antibiotika; clindamycin (2 µg), penicillin (2 IU), amoxicillin (25 µg) og ciprofloxacin (5 µg). Et annet viktig funn var vekst på VRE-skåler og påvisning av ESBL-produserende bakterier.

Flere av antibiotikatypene som ble undersøkt er relevante å forskrive for tannleger. Ciprofloxacin er likevel spesielt interessant fordi det har resistensdrivende egenskaper. Dette er et antibiotikum som svært sjelden skrives ut av allmenntannleger. Indikasjoner er luftveisinfeksjoner, urinveisinfeksjoner, gonoré, gastrointestinale infeksjoner, infeksjoner i hud og bløtvev forårsaket av gramnegative bakterier, infeksjoner i ledd og skjelett, men også som profylakse i enkelte tilfeller (44). Allmenntannlegen vil derfor sjelden forskrive denne typen antibiotikum, men vil med høy sannsynlighet ha pasienter i stolen som har fått forskrevet medikamentet.

Forekomst av resistente bakterier er vist i en rekke studier gjennom tidene, for eksempel Grundmann et al (45). Denne studien samlet inn prøver fra sykehus i 36 ulike Europeiske land. Her ble det testet flere tusen prøver med *E. coli* og *Klebsiella* og deres resistens mot bl a. amoxicillin og ciprofloxacin ble kartlagt. De viste at selv om forekomsten av resistens var stor, var den lavere i Skandinavia enn ellers i Europa. I våre prøver var det stor forekomst av

resistente bakterier. Dessuten viser flere studier at antibiotikaresistens øker over tid. Frøding et al kunne registrere en økning av resistens mot kefalosporiner fra 4 % til 12 % på åtte år, spesielt i *E. coli* og *Klebsiella* (46). Det er allmenn enighet om at antibiotikaresistens øker i helsevesenet, også i Norge (47, 48). Derfor har Norsk Folkehelseinstitutt presentert en rekke tiltaksområder for å redusere bruken av antibiotika (19).

Resistens i oral flora har blitt undersøkt i flere studier fra Norge og utlandet. En masteroppgave fra 2019 så på antibiotikaresistens hos GN stavbakterier samlet inn fra pasienter med periodontitt (49). Her ble det blant annet detektert ESBL resistensmekanisme i 35 av 42 bakterieprøver. I en reviewartikkel fra 2022 (50) viser de til at 90 – 97% av periodontale bakterier har ESBL- resistensmekanismer i tillegg til høye nivåer av erytromycinresistens med opp mot 65% hos normalflorabakterien *Streptococcus Salivarius*. Jungerman et al. (51) fant i 2011 resistens hos 5 – 42% av alle bakterier i infiserte rotkanaler.

Denne studien fant resistente bakterier fra behandleres hansker under endodontisk behandling. Den første hanskeprøven ble tatt umiddelbart etter et hanskebytte eller rett etter desinfisering av kofferdam. Det er usikkert om denne prøven er representativ for operatørens arbeid gjennom hele behandlingen. En positiv prøve på dette tidspunktet kan bety at behandleren ikke har valgt å bytte hansker og har vært i kontakt med hud eller saliva. En positiv andreprøve er mer alvorlig. Kontaminasjon av hanskene rett før rotfylling/innlegg kan tilføre eksogene bakterier til rotkanalen. Dette vil svekke prognosen (13, 52)

Når det gjelder praktisering av kliniske rutiner og aseptiske arbeidsmetoder ved endodontisk behandling, viste Myrhaug et al. at det er store forskjeller mellom spesialister og allmennpraktiserende tannleger (53). Det er også vist variasjoner i endodontisk behandling mellom institusjoner og privat praksis (54). Slike forskjeller er ikke belyst i denne oppgaven. Hudbakterier kan overføres fra behandler til pasient og vice versa (55, 56).

Det er ikke holdepunkter for å si noe om sammenhengen mellom diagnoser og forekomst av resistente bakterier, men dette kan påvirke validiteten i undersøkelsen. Vår studie har et lite antall pasienter. Derfor kan den endodontiske diagnosen ha stor innvirkning på resultatet uten at det er noen statistisk signifikant sammenheng.

Våre resultater er basert på tradisjonelle mikrobiologiske teknikker som dyrking på blodagarskåler med rikt næringsinnhold, identifikasjon på Vitek2 analyseverktøy,

resistenstesting ved agar-lappediffusjonsteknikk og ESBL/VRE-resistent indikasjonsskåler (CHROMagar). Dette er godt utprøvde og pålitelige metoder, men inneholder likevel usikkerhetsmomenter. Spesielt er manuell resistensbestemmelse basert på visuell vurdering av soner. For soner som ligger i grenseland mellom positiv og negativ test, kan dette være en usikkerhetsfaktor.

Resultatene av denne relativt begrensede studien viser stor grad av resistens blant bakterier påvist på hansker under endodontisk behandling. Dette bør åpne opp for diskusjon om det er behov for oppdatering og innstramming av aseptiske rutiner for å begrense potensiell spredning av resistens under endodontisk behandling.

6. Konklusjon

Hensikten med denne studien var å identifisere bakteriearter og kartlegge forekomst av resistens i prøver tatt fra hansker benyttet under endodontisk behandling. Det ble påvist en rekke bakterier, med overvekt av *Pantoea spp.* og *S. Epidermidis*. Alle bakteriestammene unntatt én viste resistens mot ett eller flere antibiotika, der flest var resistente mot penicillin (*Pantoea spp.*, *S. Epidermidis*, *S. Haemolyticus* og *S.hominis*). Flere av bakteriene var i tillegg multiresistente. Det ble påvist uventet høy forekomst av ESBL-produserende bakterier og flere bakterier var i tillegg resistente mot vankomycin. Resultatene indikerer at bakterier på hansker brukt under endodontisk behandling representerer et reservoar for overføring av resistente bakterier. Studiens konklusjon burde derfor være en klar påminnelse om viktigheten av korrekt håndhygiene og hanskebruk.

7. Referanser

1. Freyvoll MCM, Gjerstad K og Lundgaard EC. Bakteriell kontaminasjon av hansker under endodontisk behandling. Masteroppgave. Det odontologiske fakultet, UiO. Oslo 2022.
2. Berthelot P, Dietemann J, Fascia P, Ros A, Mallaval F et al. Bacterial contamination of nonsterile disposable gloves before use. *Am J Infect Control* 2006; 34:128-30.
3. Olsen RJ, Lynch P, Coyle MB et al. Examination gloves as barriers to hand contamination in clinical practice. *JAMA*. 1993; 270: 350-3.
4. Folkehelseinstituttet. Håndhygieneveilederen. Hansker.
www.fhi.no/nettpub/handhygiene/i-praksis/hansker-hudreaksjoner-og-negler/ lest 13.4.2.2023
5. Hardersen LR, Enersen M, Kristoffersen AK, Ørstavik D og Sunde PT. Maintenance of the aseptic working field during endodontic treatment, *Acta Odontologica Scandinavica*. 2019; 77:7: 502-507. DOI:10.1080/00016357.2019.1606935
6. Giraldo LM og Erika Mikausova. Mikrobiell kontaminasjon av guttaperka points før introduksjon i endodontisk behandling- en kvalitetskontrollstudie. Masteroppgave. Det odontologiske fakultet, UiO. Oslo 2017.
7. Bjørndal L, Kirkevang L-L og Whitworth JM (eds). *Textbook of endodontology*. 3. utg. Wiley Blackwell; 2018.
8. Rôças IN, Siqueira JF, Santos KR og Coelho AM. Red complex (*Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis*, and *Treponema denticola*) in endodontic infections: a molecular approach. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*. 2001; 91 (4): 468–71.
9. Haapasalo M, Ranta H, Ranta K og Shah H. Black-pigmented *Bacteroides* spp. in human apical periodontitis. *Infect. Immun*. 1986; 53: 149–53
10. Sundqvist GK, Eckerbom MI, Larsson AP og Sjogren UT. Capacity of anaerobic bacteria from necrotic dental pulps to induce purulent infections. *Infect. Immun*. 1979; 25: 685–93.
11. Sundqvist G. Bacteriological studies of necrotic dental pulps. Thesis, Umea University, 1976.
12. Molander A, Reit C, Dahlen G, Kvist T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int. Endod. J*. 1998; 31: 1–7.

13. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjogren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* 1998; 85: 86–9
14. Vidana R, Sullivan A, Billstrom H, Ahlquist M, Lund B. Enterococcus faecalis infection in root canals – host-derived or exogenous source? *Lett. Appl. Microbiol.* 2011; 52: 109–15
15. Tronstad L, Barnett F, Gervone F. Periapical bacterial plaque in teeth refractory to endodontic treatment. *Endod. Dental Traumatol.* 1990; 6: 73–7.
16. Leonardo MR, Rossi MA, Silva LA, Ito IY, Bonifacio KC. EM evaluation of bacterial biofilm and microorganisms on the apical external root surface of human teeth. *J. Endod.* 2002; 28: 815–18.
17. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science.* 1999; 284(5418): 1318–22.
18. Auschill TM, Arweiler NB, Netuschil L, Brex M, Reich E, Sculean A. Spatial distribution of vital and dead microorganisms in dental biofilms. *Arch. Oral Biol.* 2001; 46(5): 471–6.
19. Handlingsplan mot antibiotikaresistens i helsetjenesten. Helse og omsorgsdepartementet, 2015. <https://www.regjeringen.no/contentassets/915655269bc04a47928fce917e4b25f5/handlingsplan-antibiotikaresistens.pdf> Lest 28.3 2023
20. Steinbakk M, Sunde M, Urdahl AM, Barkbu KN, Sørnum H, Lunestad B-T et al. Folkehelseinstituttet. Antibiotikaresistens- kunnskapshull, utfordringer og aktuelle tiltak. Rapport fra tversektoriell ekspertgruppe. 2022. <https://www.fhi.no/publ/2020/antibiotikaresistens-kunnskapshull-utfordringer-og-aktuelle-tiltak/> Lest 13.4.2023.
21. Rams TE, Degener JE og van Winkelhoff AJ. Antibiotic resistance in human chronic periodontitis microbiota. *J Periodontol.* 2014 ; 85(1): 160-9.
22. Rams TE, Degener JE og van Winkelhoff AJ. Prevalence of beta-lactamase producing bacteria in human periodontitis. *J Periodontal Res.* 2013; 48(4): 493-9.
23. ESBL holdige gramnegative stavbakterier - veileder for helsepersonell. Folkehelseinstituttet. 2010. <https://www.fhi.no/nettpub/smittevernveilederen/sykdommer-a-a/esbl-betalaktamaser-med-utvidet-spe/> Lest 12.4. 2023
24. Enterokokkinfeksjon (inkl. vankomycinresistente enterokokker, VRE) - veileder for helsepersonell. Folkehelseinstituttet.

- 2010.<https://www.fhi.no/nettpub/smittevernveilederen/sykdommer-a-a/enterokokkinfeksjon-inkl.-vankomyci/> Lest 12.4 2023
25. Shariati A, Arshadi M, Khosrojerdi MA, Abedinzadeh M, Ganjalishahi M et al. The resistance mechanisms of bacteria against ciprofloxacin and new approaches for enhancing the efficacy of this antibiotic. *Front Public Health*. 2022; Dec 21;10:1025633.
26. Nasjonal kompetansetjeneste for antibiotikabruk i spesialhelsetjenesten, Folkehelseinstituttet. NORM NORM-VET. Usage of Antimicrobial Agents and Occurrence of Antimicrobial Resistance I Norway. <https://www.fhi.no/contentassets/c183b18ccc4a4005a6b9cfae28c97351/norm-norm-vet-2021.pdf> Lest 5.1.2023
27. The Bacterial Challenge: Time to React. ECDC/EMA Joint Technical Report 2009. [https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/media/en/publications/Publications/0909 TER The Bacterial Challenge Time to React.pdf](https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/media/en/publications/Publications/0909_TER_The_Bacterial_Challenge_Time_to_React.pdf). Lest 12.4.2023.
28. Pumart P, Phoda V, Thamlikitkul V, Riewpaiboon A, Prakongsai P og Limwattananon S. Health and economic impacts of antimicrobial resistance in Thailand. *J Health Serv Res Policy*. 2012; 6: 352 - 60.
29. Cecchini M, Langer J, Slawomirski L. Antimicrobial Resistance in G7 Countries and Beyond: Economic Issues, Policies and Options for Action. OECD, 2015. <https://www.oecd.org/els/health-systems/Antimicrobial-Resistance-in-G7-Countries-and-Beyond.pdf>. Lest 12.4.2023.
30. Bruksanvisning. Ferdiglagde mediumskåler. Becton Dickinson GmbH. 2011. <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=32830> Lest 12.4.2023
31. MacConkey Agar Plates Protocol. American Society for Microbiology. 2005 <https://asm.org/ASM/media/Protocol-Images/MacConkey-Agar-Plates-Protocols.pdf?ext=.pdf> Lest 12.4.2023
32. Vitek2. Biomerieux. <https://www.manualslib.com/manual/1291233/Biomerieux-Vitek-2.html?page=8#manual> Lest 12.4.2023
33. Bruksanvisning. BD BBL™ Sensi-Disc™ Antimicrobial Susceptibility Test Discs. Becton Dickinson GmbH. 2011. [https://legacy.bd.com/ds/technicalCenter/inserts/8840621\(201107\).pdf](https://legacy.bd.com/ds/technicalCenter/inserts/8840621(201107).pdf) Lest 12.4.2023
34. Norsk legemiddelhåndbok. https://www.legemiddelhandboka.no/L1.2.13.1.1/Antimikrobielle_midler Lest 12.4.2023

35. Berild D. Dårlig antibiotikabehandling, prisverdig åpenhet. Tidsskr Nor Legeforen 2020. doi: 10.4045/tidsskr.20.0711 <https://tidsskriftet.no/2020/10/leder/darlig-antibiotikabehandling-prisverdig-apenhet> Lest 12.4.2023
36. European Committee on Microbial Susceptibility Testing. https://www.eucast.org/clinical_breakpoints. Lest 12.4.2023
37. VRE-ESBL-skåler. CHROMagar. <https://www.chromagar.com/en/product/chromagar-esbl/> Lest 12.4.2023
38. Kloos WE og Schleifer KH. Isolation and Characterization of Staphylococci from Human Skin II. Descriptions of Four New Species: *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus hominis*, and *Staphylococcus simulans*. *Int. J. Syst. Bact.* 1975; 25 (1): 26 – 79.
39. Schleifer KH og Kloos WE. Isolation and Characterization of Staphylococci from Human Skin I. Amended Descriptions of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus saprophyticus* and Descriptions of Three New Species: *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus haemolyticus*, and *Staphylococcus xylosum*. 1975; Vol 25 (1): 50 – 61.
40. Niazi SA, Clarke D, Do T et al. *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis* isolated from refractory endodontic lesions are opportunistic pathogens. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 3859-69.
41. Hunt GW og Jean S. Enterobacter, Cronobacter, and Pantoea Species. In: Long SS, Prober CG, Fischer M og David Kimberlin D (eds). Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases (Sixth Ed). 2022. Elsevier Inc. ISBN 978-0-323-75608-2.
42. Kovaleva j, Degener JE og van der Mei HC. *Methylobacterium* and Its Role in Health Care-Associated Infection. *J. Clin Microbiol.* 2014 May; 52(5):1317 – 1321. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3993692/>. Lest 11.5 2023.
43. Tønjum T. *Brucella*. Store norske leksikon. <https://sml.sn.no/Brucella>. Lest 11.5. 2023.
44. Ciprofloxacin. Felleskatalogen. 2021. <https://www.felleskatalogen.no/medisin/ciprofloxacin-actavis-547507>. Lest 11.5 2023.
45. Grundmann H et al. Occurrence of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in the European survey of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (EuSCAPE): a prospective, multinational study. *Lancet Infect Dis.* 2017; 17(2): 153-163.
46. Fröding IG og Saule M og Amilon K. Antibiotikaresistens i blododlingar. 2020: Karolinska universitetssjukhuset.

47. Vadstein O. Antibiotikabruk og villfarelser. Aftenposten 31.1.2023
<https://www.aftenposten.no/meninger/kronikk/i/76mQqv/antibiotikabruk-og-villfarelser>
 Lest 12.4.2023
48. Antibiotics resistance. World Health Organization. 2021. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance> Lest 12.4.2023
49. Bjørnstad TS. Påvisning av antibiotikaresistens hos gram-negative stavbakterier fra pasienter med periodontitt. Masteroppgave. Det odontologiske fakultet, UiO. Oslo 2019.
50. Brooks L, Narvekar U, McDonald A og Mullany P. Prevalence of antibiotic resistance genes in the oral cavity and mobile genetic elements that disseminate antimicrobial resistance: A systematic review. *Mol. Oral Microbiol.* 2022; 37: 133 – 153.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/omi.12375>. Lest 11.5.2023
51. Jungermann GB, Burns K, Nandukumar R, Tolba M, Venezia RA og Fuoad AF. Antibiotic Resistance in Primary and Persistent Endodontic Infections. *J. Endod.* 2011; 37(10): 1337 – 1344.
52. Sunde PT og Dahlen G. Aseptikk og antiseptikk i endodontien. *Tandlægebladet.* 2014; 7: 522.
<https://tandlaegebladet.dk/sites/default/files/articles-pdf/522-527.pdf> Lest 12.4.2023
53. Myrhaug TH, Grytten J, Sandvik L og Ørstavik D. Kliniske rutiner ved rotbehandling hos spesialister i endodonti og allmennpraktiserende tannleger i Norge. *Nor Tannlegeforen Tid.* 2011; 121: 300-4.
54. Malmberg L, Hägg E og Björkner AE. Endodontic infection control routines among general dental practitioners in Sweden and Norway: a questionnaire survey. *Acta Odontologica Scandinavica.* 2019; Vol. 77(6), 434-438.
55. Luckey JB, Barfield RD og Eleazer P D. Bacterial count comparisons on examination gloves from freshly opened boxes versus nearly empty boxes and from examination gloves before treatment versus after dental dam isolation. *Journal of endodontics,* 2006; Vol 32 (7), 646-648.
56. McDaniel TF, Daugherty D og Wilson S. Bacterial contamination of clinical examination gloves. *Gen. Dent.* 2007; Jan–feb 55(1): 33-5.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17333963/> Lest 12.4.2023